

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

ปัญหาเรื่องพลังงานและเชื้อเพลิงกำลังได้รับความสนใจเป็นอย่างมากในปัจจุบัน ซึ่งเป็นปัญหาสำคัญที่ทั่วโลก รวมทั้งประเทศไทยกำลังเผชิญอยู่ (สมชาย โอสุวรรณ, 2522; สโมสรเอทานอล-ไบโอดีเซลแห่งประเทศไทย และคณะ, 2544) ซึ่งมีแนวโน้มที่จะขาดแคลนขึ้นในอนาคต (ประสม สถาปิตานนท์, 2523; อรพิน ภูมิภมร, 2525) จึงทำให้นักวิทยาศาสตร์และนักวิชาการพยายามหาพลังงานจากแหล่งอื่นมาทดแทน (นฤมล ศรีสุมะ และคณะ, 2524) ซึ่งพลังงานทดแทนที่ได้รับความสนใจอยู่ในขณะนี้ เช่น พลังงานลม พลังงานแสงแดด และมวลชีวภาพ (สมาคมการค้ามันสำปะหลังไทย, 2530) จากสภาพแรงกดดันด้านการบริโภคพลังงานเชื้อเพลิงของไทยที่ต้องพึ่งพาการนำเข้าปีละกว่า 150,000 ล้านบาท จึงทำให้ความเข้มแข็งหรือความอ่อนแอทางเศรษฐกิจถูกผูกโยงเข้ากับความผันแปรของราคาน้ำมันในตลาดโลก (จินทนา อรรถสถาพร, 2544) และแนวโน้มของราคาน้ำมันที่สูงขึ้นเรื่อย ๆ ยิ่งส่งผลกระทบโดยตรงต่อเศรษฐกิจของไทย ราคาสินค้า เครื่องอุปโภคและบริโภคที่ต้องปรับตัวสูงขึ้นตามราคาน้ำมัน อย่างไรก็ตามในภาวะวิกฤติเศรษฐกิจนี้ทำให้ประเทศไทยต้องหันมาทบทวนนโยบายทั้งด้านการเกษตร และอุตสาหกรรม โดยเฉพาะการแปรรูปผลิตภัณฑ์ให้มีมูลค่าเพิ่มรวมทั้งการใช้กลยุทธ์ในการแก้ปัญหาการขาดแคลนน้ำมันเชื้อเพลิงหรือน้ำมันเชื้อเพลิงที่มีราคาแพง โดยการแปรรูปผลิตผลทางการเกษตรบางชนิดให้เป็นพลังงาน เช่น การผลิตแอลกอฮอล์ หรือเอทานอล (สโมสรเอทานอล-ไบโอดีเซลแห่งประเทศไทย และคณะ, 2544)

เอทานอลสามารถผลิตได้จากวัตถุดิบหลายชนิด โดยเฉพาะพืชที่มีปริมาณมากจนล้นตลาด เช่น ข้าว ข้าวโพด มันสำปะหลัง และอ้อย รวมทั้งพืชชนิดอื่น ๆ ที่มีศักยภาพ เช่น ข้าวฟ่างหวาน (สโมสรเอทานอล-ไบโอดีเซลแห่งประเทศไทย และคณะ, 2544) ไม่เพียงแต่การใช้เฉพาะกากน้ำตาลมาใช้เป็นวัตถุดิบเท่านั้น (จินทนา อรรถสถาพร, 2544) อย่างไรก็ตาม มันสำปะหลังจัดเป็นวัตถุดิบที่มีความเหมาะสมในการผลิตเอทานอล เนื่องจากมีปริมาณมากพอตลอดปี และราคาถูก ผลได้เอทานอลต่อหน่วยของวัตถุดิบมากพอควร โดยที่มันสำปะหลังสดจำนวน 1 ตัน สามารถผลิตเอทานอลร้อยละ 95 (โดยปริมาตร) ได้โดยประมาณ 180 ลิตร (สมาคมการค้ามันสำปะหลังไทย, 2530) จากการศึกษาของสถาบันวิจัยเพื่อพัฒนาประเทศไทย (TDRI) พบว่าการหมักมันสำปะหลังเพื่อเป็นแอลกอฮอล์ สำหรับทดแทนพลังงานเชื้อเพลิงจะเป็นจริงก็ต่อเมื่อหัวมันมีราคาต่ำกว่า 0.50 บาทต่อกิโลกรัม และรัฐบาลให้สิทธิพิเศษในเรื่องภาษีต่าง ๆ (กล้าณรงค์ ศรีรอด, 2536) เพื่อความคุ้มค่าในเชิงพาณิชย์ และเป็นอีกแนวทางหนึ่งในการลดต้นทุนของการผลิตเอทานอลลงคือ การนำเอาวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรมาใช้ให้เกิดประโยชน์โดยเฉพาะกากมันสำปะหลัง

กากมันสำปะหลัง เป็นผลพลอยได้จากกระบวนการผลิตแป้ง ซึ่งมีอยู่ประมาณร้อยละ 10-15 ของน้ำหนักหัวมันสดที่ใช้ (กล้าณรงค์ ศรีรอด, 2541) กากมันสำปะหลังมีแป้งเป็นองค์ประกอบร้อยละ 56 ของน้ำหนักแห้ง เนื่องจากกากมันสำปะหลังมีปริมาณแป้งและความชื้นสูง ทำให้เกิดการเน่าเสียได้ง่าย จึงนิยมนำไปตากแดดให้แห้งและจำหน่ายในราคาถูกเพื่อใช้ผสมอาหารสัตว์ (Grace, 1977) เพื่อเป็นการเพิ่มมูลค่าให้กับกากมันสำปะหลังที่สามารถทำได้โดยการนำกากมันสำปะหลังมาไว้ในรูปของวัตถุดิบในอุตสาหกรรมการหมัก (กล้าณรงค์ ศรีรอด

, 2536) โดยการผลิตสารละลายน้ำตาลหรือน้ำเชื่อมจากการย่อยกากมันสำปะหลังด้วยกรดหรือเอนไซม์ (Sreekantiak *et al.*, 1986; Srikantha *et al.*, 1987; Jaleel *et al.*, 1988; สีนินาถ เจริญอนุกุลกิจ, 2539; จีรวรรณ อภิรักษากร, 2540; www.engr.tu.ac.th/info/rr/rr1997/fullpapers.htm; กล้าณรงค์ ศรีรอด, 2541; ลิจิต ศิริสันติเมธาคม และคณะ, 2543) เนื่องจากสารละลายน้ำตาลหรือน้ำเชื่อมมีน้ำตาลกลูโคสเป็นองค์ประกอบส่วนใหญ่ ดังนั้นจึงสามารถที่จะนำไปใช้เป็นแหล่งวัตถุดิบในการผลิตผลิตภัณฑ์ต่าง ๆ ได้รวมทั้งการผลิตเอทานอล (Srikantha *et al.*, 1987; Jaleel *et al.*, 1988)

โดยทั่วไปการผลิตเอทานอลโดยวิธีการหมัก มักจะนิยมใช้เชื้อยีสต์โดยเฉพาะอย่างยิ่ง *Saccharomyces cerevisiae* อย่างไรก็ดีได้มีการเสาะหาจุลินทรีย์ชนิดอื่นที่มีความสามารถในการผลิตเอทานอลได้รวมทั้งแบคทีเรีย *Zymomonas* sp. (อรพิน ภูมิภมร, 2525) แบคทีเรีย *Z. mobilis* เป็นแบคทีเรียกรัมลบ รูปแท่ง มีขนาดกว้าง 1-1.4 ไมครอน และยาว 2-6 ไมครอนจัดอยู่ในแฟมิลี *Pseudomonadaceae* เคลื่อนที่ได้ ไม่มีสปอร์ (Buchanan *et al.*, 1974) ในอาหารเลี้ยงเชื้อสูตร standard medium สามารถที่จะเจริญได้ดีที่สุดที่อุณหภูมิ 30° ซ ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เริ่มต้นระหว่าง 5-7 ซึ่งแบคทีเรีย *Z. mobilis* สามารถใช้น้ำตาลกลูโคส ฟรุคโตส และซูโครสได้โดยใช้ Entner-Doudoroff pathway ได้ผลิตภัณฑ์ส่วนใหญ่เป็นเอทานอลและก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ มีศักยภาพที่จะผลิตเอทานอลได้มากถึงร้อยละ 97 ของค่าที่สามารถผลิตได้ตามทฤษฎี (Swings, De Ley, 1977) เมื่อเปรียบเทียบกับเชื้อยีสต์ พบว่าแบคทีเรีย *Z. mobilis* จะผลิตมวลเซลล์ต่ำกว่า ให้ผลได้ของเอทานอล และการใช้น้ำตาลสูงกว่า ทนต่อเอทานอลได้สูงกว่า รวมทั้งสามารถที่จะปรับปรุงพันธุ์ได้ง่ายกว่าเชื้อยีสต์ (Rogers *et al.*, 1980; http://ces.iise.ernet.in/curscine/july_10/articles_14.htm.) จึงมีความเป็นไปได้ที่จะใช้แบคทีเรีย *Z. mobilis* มาใช้ในการหมักเพื่อผลิตเอทานอลจากน้ำเชื่อมที่ได้จากการย่อยกากมันสำปะหลัง ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงมุ่งเน้นถึงการศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับใช้ในการผลิตเอทานอลทั้งในระดับขวดเขย่า ขนาด 500 มิลลิลิตร และในถังปฏิกรณ์ชีวภาพแบบถังกวน ขนาด 5 ลิตร เพื่อให้สามารถทราบถึงสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการหมักเพื่อผลิตเอทานอลที่จะนำไปใช้ในการพัฒนากระบวนการผลิตในระดับอุตสาหกรรมต่อไป

1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1.2.1 เพื่อศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมในการหมักเพื่อผลิตเอทานอลจากน้ำเชื่อมที่ได้จากการย่อยกากมันสำปะหลังโดยแบคทีเรีย *Z. mobilis* ในระดับขวดเขย่า ขนาด 500 มิลลิลิตร

1.2.2 เพื่อศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมในการหมักเพื่อผลิตเอทานอลจากน้ำเชื่อมที่ได้จากการย่อยกากมันสำปะหลังโดยแบคทีเรีย *Z. mobilis* ในถังปฏิกรณ์ชีวภาพแบบถังกวน ขนาด 5 ลิตรแบบกะ และแบบกึ่งกะ

1.3 ข้อยกเว้นและขอบเขตของการวิจัย

1.3.1 น้ำเชื่อมที่ใช้ในการทดลองได้จากการย่อยกากมันสำปะหลังด้วยเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส และเอนไซม์อะไมโลไกลูโคซิเดส คัดแปลงวิธีการผลิตจากจีรวรรณ อภิรักษากร (2540) และลิจิต ศิริสันติเมธาคม และคณะ (2543)

1.3.2 ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการหมักเพื่อผลิตเอทานอลจากน้ำเชื่อมที่ได้จากการย่อยกากมันสำปะหลังในระดับขวดเขย่า ขนาด 500 มิลลิลิตร ซึ่งได้แก่ ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เริ่มต้น ความเข้มข้นของน้ำตาลรีดิวซ์เริ่มต้น และอัตราการใช้ในอาหารเลี้ยงเชื้อสูตรอุดม

1.3.3 ศึกษาแหล่งไนโตรเจนที่เหมาะสมสำหรับการหมักเพื่อผลิตเอทานอลจากน้ำเชื่อมที่ได้จากการย่อยกากมันสำปะหลังในระดับขวดเขย่า ขนาด 500 มิลลิลิตร ซึ่งได้แก่ $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ และ NH_4Cl ในอาหารเลี้ยงเชื้อสูตรปรับต่ำ

1.3.4 ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการหมักเพื่อผลิตเอทานอลจากน้ำเชื่อมที่ได้จากการย่อยกากมันสำปะหลังในถังปฏิกรณ์ชีวภาพแบบถังกวน ขนาด 5 ลิตรในอาหารเลี้ยงเชื้อสูตรปรับต่ำแบบกะ ซึ่งได้แก่ ความเร็วรอบของใบกวน ปริมาณกล้ำเชื้อเริ่มต้น และการควบคุมค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) คงที่ในระหว่างการหมัก และการศึกษาการหมักแบบกึ่งกะ ที่มีวิธีการเติมน้ำตาลรีดิวซ์ให้มีความเข้มข้นรวมทั้งหมดเท่ากับ 200 กรัมต่อลิตร 3 แบบ ซึ่งได้แก่ 1) การเติมน้ำตาลรีดิวซ์ที่มีความเข้มข้นเท่ากับ 75 กรัมต่อลิตร ปริมาตร 250 มิลลิลิตร จำนวน 8 ครั้ง 2) การเติมน้ำตาลรีดิวซ์ที่มีความเข้มข้นเท่ากับ 150 กรัมต่อลิตร ปริมาตร 500 มิลลิลิตร จำนวน 4 ครั้ง และ 3) การเติมน้ำตาลรีดิวซ์ที่มีความเข้มข้นเท่ากับ 300 กรัมต่อลิตร ปริมาตร 1 ลิตร จำนวน 2 ครั้ง

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1.4.1 ทำให้ทราบถึงองค์ประกอบและปัจจัยที่มีผลต่อการผลิตเอทานอลจากน้ำเชื่อมที่ได้จากการย่อยกากมันสำปะหลังโดยแบคทีเรีย *Z. mobilis*

1.4.2 ทำให้ทราบถึงแนวทางในการพัฒนา รูปแบบของการผลิตเอทานอลจากน้ำเชื่อมที่ได้จากการย่อยกากมันสำปะหลังโดยแบคทีเรีย *Z. mobilis* ในระดับอุตสาหกรรมต่อไป

1.4.3 เป็นการนำวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรมาใช้ให้เกิดประโยชน์สูงสุดในทางอุตสาหกรรม ซึ่งเป็นการเพิ่มมูลค่าให้กับของเหลือทิ้งได้อีกแนวทางหนึ่ง

1.5 หน่วยงานที่นำผลการวิจัยไปใช้ประโยชน์

1.5.1 โครงการผลิตบัณฑิตระดับมหาบัณฑิต หลักสูตรเทคโนโลยีชีวภาพ คณะเทคโนโลยีมหาวิทยาลัยขอนแก่น ที่สามารถนำไปใช้เป็นแนวทางในโครงการวิทยานิพนธ์

1.5.2 นักวิชาการ นักวิจัย และผู้สนใจทางด้านเทคโนโลยีชีวภาพ เกี่ยวกับการนำวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรมาประยุกต์ใช้ให้เกิดประโยชน์ในทางอุตสาหกรรม

1.5.3 บริษัทเอกชน และหน่วยงานราชการที่เกี่ยวข้องกับการผลิตเอทานอล

บทที่ 2

การตรวจเอกสารและผลงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 กากมันสำปะหลัง

กากมันสำปะหลังเป็นผลพลอยได้ที่เกิดจากกระบวนการผลิตแป้งมันสำปะหลัง เมื่อพิจารณาองค์ประกอบที่มีอยู่ในกากมันสำปะหลัง พบว่าองค์ประกอบส่วนใหญ่เป็นแป้งที่ไม่สามารถแยกออกได้จากกระบวนการผลิตแป้งมันซึ่งมีอยู่มากถึงร้อยละ 56 โดยมีมวลน้ำหนักแห้ง (ตารางที่ 1) ส่วนองค์ประกอบที่เหลือเป็นเส้นใยจากเปลือกของหัวมันสดและเส้นใยจากเนื้อมันสำปะหลัง มีโปรตีนและไขมันอยู่เพียงเล็กน้อย (Grace, 1977) เนื่องจากกากมันสำปะหลังมีลักษณะเปียกและมีความชื้นสูง จึงทำให้เป็นอุปสรรคอย่างยิ่งต่อการลำเลียง และต้องเสียค่าใช้จ่ายในการอบกากมันสำปะหลังให้แห้ง รวมทั้งเกิดการเน่าเสียได้ง่าย ดังนั้นจึงนิยมนำกากมันสำปะหลังไปตากแดดให้แห้งและจำหน่ายในราคาถูกเพื่อใช้ในการผสมอาหารสัตว์

ตารางที่ 1 องค์ประกอบของกากมันสำปะหลัง

องค์ประกอบ	ร้อยละโดยมวลน้ำหนักแห้ง
แป้ง	56.0
เส้นใย	35.9
โปรตีน	5.3
เถ้า	2.7
ไขมัน	0.1
รวม	100

Grace (1977)

เนื่องจากกากมันสำปะหลังมีแป้งเป็นองค์ประกอบส่วนใหญ่จึงทำให้ได้รับความสนใจในทางวิชาการ นอกจากนี้กากมันสำปะหลังยังมีปริมาณมาก หาได้ง่าย และมีราคาถูก งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการใช้กากมันสำปะหลังมาใช้ในการผลิตน้ำเชื่อมหรือสารละลายน้ำตาล มีดังนี้

Shamala, Sreekantiak (1986) ได้ศึกษาเกี่ยวกับการทำให้กากมันสำปะหลังเกิดแซคคาริฟิเคชัน โดยใช้เอนไซม์ผสมซึ่งเตรียมขึ้นจากเชื้อรา *Aspergillus ustus*

Srikanta *et al.* (1987) ได้ศึกษาเกี่ยวกับการพัฒนาเทคนิคในการทำกากมันสำปะหลังเกิดแซคคาริฟิเคชัน โดยใช้กรดซัลฟิวริก ซึ่งสารละลายน้ำตาลที่ได้สามารถที่จะนำมาใช้ในการผลิตแอลกอฮอล์ได้โดยเชื้อยีสต์

Jaleel *et al.* (1988) ได้ศึกษาเกี่ยวกับการทำให้กากมันสำปะหลังเกิดแซคคาริฟิเคชัน โดยใช้กรดซัลฟิวริก ร่วมกับการใช้เอนไซม์กลูโคอะไมเลส ซึ่งสารละลายน้ำตาลที่ได้สามารถที่จะนำมาใช้ในการหมักสำหรับผลิตเอทานอลได้โดยเชื้อยีสต์

สินีนาด เจียมอนุกุลกิจ (2539) ได้ศึกษาเกี่ยวกับการผลิตกรดอะมิโนจากสารละลายน้ำตาลที่ได้จากการย่อยกากมันสำปะหลังด้วยกรดซัลฟิวริก โดยเชื้อยีสต์ *Candida oleophila* NN-39

จิรวรรณ อภิรักษากร (2540) ได้ศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิตน้ำเชื่อมกลูโคส จากการย่อยกากมันสำปะหลังโดยใช้กรดชนิดต่าง ๆ ได้แก่ กรดออกซาลิก กรดซัลฟิวริก และกรดซัลฟิวรัส รวมทั้งการใช้เอนไซม์แอลฟา-อะไมเลสร่วมกับกลูโคอะไมเลส

กล้าณรงค์ ศรีรอด (2541) ได้ศึกษาเกี่ยวกับการสกัดแป้งออกจากกากมันสำปะหลัง โดยการใช้เอนไซม์ผสมระหว่างเซลลูเลสกับเพกตินเอสในอัตราส่วนต่าง ๆ กัน ซึ่งสามารถที่จะสกัดแป้งได้ประมาณร้อยละ 56 ของปริมาณแป้งที่มีอยู่ในกากมันสำปะหลัง แป้งที่ได้สามารถที่จะนำไปใช้ในการผลิตน้ำเชื่อมกลูโคสได้ โดยการใช้เอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส และกลูโคอะไมเลส

ในปี ค. ศ. 1997 ได้มีการศึกษาเกี่ยวกับการเพิ่มประสิทธิภาพของการแยกน้ำตาลกลูโคสออกจากสารละลายน้ำตาลที่ได้จากการย่อยกากมันสำปะหลังด้วยเอนไซม์ผสมร่วมกัน 3 ชนิด ที่ประกอบด้วยเอนไซม์ แอลฟา-อะไมเลส กลูโคอะไมเลส และเซลลูเลส โดยการประยุกต์ใช้วิธี *crossed-flow ultrafiltration* (www.engr.tu.ac.th/info/rr/rr1997/fullpapers.htm)

ลิขิต ศิริสันติเมธาคม และคณะ (2543) ได้ศึกษาเกี่ยวกับสภาวะที่เหมาะสมสำหรับใช้ในการผลิตน้ำเชื่อมกลูโคสจากการย่อยกากมันสำปะหลังด้วยเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส และกลูโคอะไมเลส ในถังปฏิกรณ์ชีวภาพระดับต้นแบบ ขนาด 50 ลิตร

2.2 แป้งมันสำปะหลัง

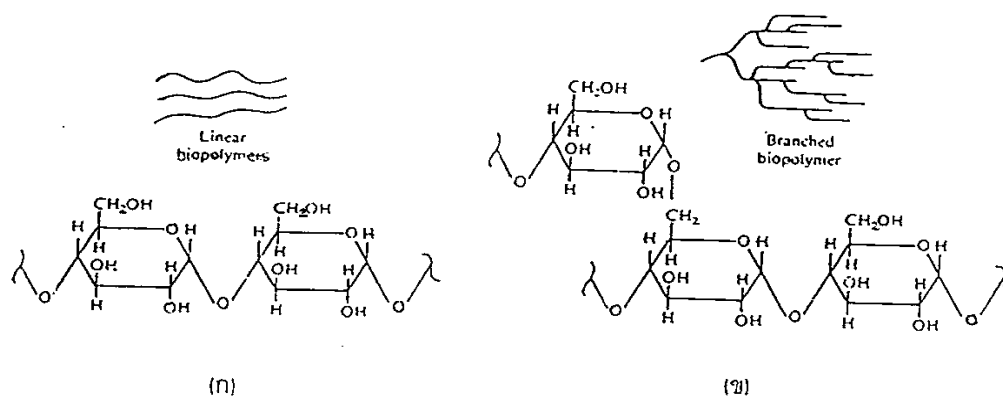
แป้งประกอบด้วยโพลิเมอร์พื้นฐาน 2 ชนิด คือ อะไมโลส (amylose) และอะไมโลเพกติน (amylopectin) ซึ่งอะไมโลสเกิดจากการเรียงตัวของหน่วยกลูโคสเป็นแนวเส้นตรงประมาณ 200 - 2,000 หน่วย โดยอาศัยพันธะแอลฟา 1,4 กลูโคซิดิก อะไมโลสละลายน้ำได้ดี ขณะต้มจะมีลักษณะขุ่น และความหนืดต่ำ เมื่ออุณหภูมิลดลงจะเกิดการก่อกวนตัวได้มาก สำหรับอะไมโลเพกตินจะมีลักษณะเป็นกิ่งก้าน ที่เกิดจากอะไมโลสสายสั้นๆ หลายสายมาต่อเชื่อมกันเป็นโครงสร้างหลัก โดยกลูโคสแต่ละหน่วยจะจับกันด้วยพันธะแอลฟา 1,4 กลูโคซิดิก ที่มีขนาด 20 - 25 หน่วย สำหรับส่วนที่แตกกันเป็นกิ่งจะจับกันด้วยพันธะแอลฟา 1,6 กลูโคซิดิก ขณะต้มในน้ำ อะไมโลเพกตินจะใสและเหนียวหนะหนะ มีความหนืดสูง และจะเกิดการก่อกวนตัวได้น้อยเมื่ออุณหภูมิลดลง เนื่องจากโมเลกุลมีการจัดเรียงตัวระเกะระกะจึงทำให้เกิดการรวมตัวกันได้ยาก แป้งมันสำปะหลังจะมีอะไมโลส ประมาณ 16-18 เปอร์เซ็นต์ ส่วนที่เหลือเป็นอะไมโลเพกติน น้ำหนักโมเลกุลของอะไมโลสและอะไมโลเพกตินมีค่าประมาณ 2.1×10^5 และ 3×10^6 ดาลตัน ตามลำดับ ดังแสดงในภาพที่ 1 (Atkinson, Mativuna, 1991)

2.3 กลไกของการย่อยแป้ง

กลไกของการเปลี่ยนแปลงของเม็ดแป้งตั้งแต่ระดับที่เป็นโพลิเมอร์ของกลูโคสไปจนกระทั่งถึงการถูกย่อยจนเกิดเป็นโมเลกุลของน้ำตาลที่มีขนาดสั้นลงจะประกอบด้วย 3 ขั้นตอน ดังนี้คือ

2.3.1 การเกิดเจลลิตินในแซน

เจลลาตินในเซชันเป็นกระบวนการพองตัวของเม็ดแป้งที่เกิดขึ้นจากการดูดซึมน้ำ (hydration) ของเม็ดแป้งในขณะที่ได้รับความร้อน ทั้งนี้เพราะโมเลกุลภายในเม็ดแป้งมีหมู่ไฮดรอกซิล (hydroxyl group) จำนวนมาก และจัดเป็นพวกที่มีคุณสมบัติเป็นไฮโดรฟิลิก (hydrophilic) สูง โดยเฉพาะโครงสร้างของอะไมโลเพคตินที่สามารถเกิดพันธะไฮโดรเจนทั้งภายในหรือระหว่างโมเลกุลได้จำนวนมาก จึงทำให้มีแรงยึดเหนี่ยวในเม็ดแป้งสูงมาก แป้งจึงไม่ละลายในน้ำเย็น เพียงแค่จะดูดซึมน้ำและเกิดการพองตัวได้เล็กน้อย เมื่อนำเอาแป้งออกไปจากเม็ดแป้งจะทำให้เม็ดแป้งแห้งและกลับคืนสู่สภาพเดิมได้ แต่เมื่ออุณหภูมิสูงขึ้น ทำให้มีพลังงานเพียงพอที่จะทำให้พันธะไฮโดรเจนแตกออกจากกัน เกิดการทำลายสภาพการจัดเรียงตัวของผลึก (crystalline) อะไมโลส แป้งจะละลายน้ำได้ดีขึ้นทำให้เกิดการพองตัวของเม็ดแป้ง เม็ดแป้งจึงมีปริมาตรเพิ่มขึ้นประมาณ 25-30 เท่า โดยช่วงอุณหภูมิที่แป้งมีการดูดซึมน้ำอย่างรวดเร็วและเกิดการพองตัวขึ้นเรียกว่า อุณหภูมิของการเกิดเจล (gelatinization temperature) ซึ่งจะมีค่าแตกต่างกันไปตามชนิดของแป้ง ในกรณีที่มีการให้ความร้อนสูงเกินกว่าอุณหภูมิของการเกิดเจลและมีน้ำอยู่มากพอ จะทำให้โมเลกุลของอะไมโลสแพร่ออกจากเม็ดแป้ง เป็นผลทำให้เม็ดแป้งยุบตัวลง ในขณะเดียวกันโมเลกุลของน้ำจะเข้าสัมผัสกับหมู่ไฮดรอกซิลของหน่วยกลูโคสได้ ส่วนน้ำที่อยู่ในเม็ดแป้งที่ยุบตัวลงซึ่งมีโมเลกุลของอะไมโลเพคตินอยู่จะทำให้เกิดเจล การเกิดเจลเป็นกระบวนการผันกลับไม่ได้และจะทำให้มีความหนืดเพิ่มมากขึ้น แป้งมันสำปะหลังจะมีช่วงของอุณหภูมิของการเกิดเจลประมาณ 52-64 ° ซ จะมีค่าต่ำกว่า ธัญพืชชนิดอื่น ๆ จึงทำให้อัตราการเพิ่มของความหนืดมีค่าสูง และเกิดการสลายตัวได้มากกว่า นอกจากนี้แป้งมันสำปะหลังยังเกิดการคืนตัวได้ค่อนข้างน้อยและช้า ทั้งนี้เนื่องจากองค์ประกอบส่วนใหญ่จะเป็นอะไมโลเพคตินดังแสดงในภาพที่ 2



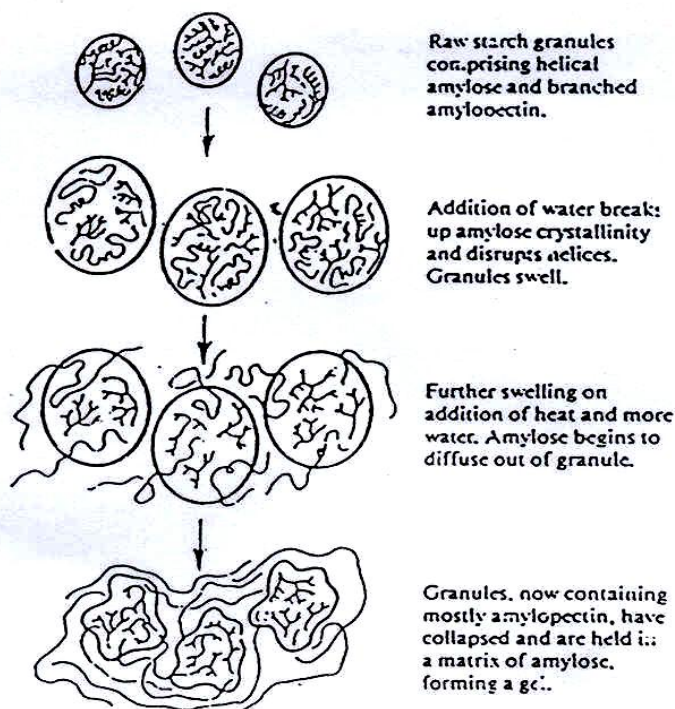
ภาพที่ 1 โครงสร้าง (ก) อะไมโลส และ (ข) อะไมโลเพคติน (Atkinson, Mativuna, 1991)

2.3.2 การเกิดลิเคอแฟลชัน

ลิเคอแฟลชันเป็นขั้นตอนของการลดความหนืดของแป้งที่เกิดเจลลง โดยเกิดการย่อยโมเลกุลของลูกโซ่กลูโคสในแป้งแบบสุ่ม (random hydrolysis) เป็นผลทำให้เกิดการแยกขนาดของลูกโซ่กลูโคสเป็นสายสั้น ๆ ทำให้ได้ขนาดของโมเลกุลเล็กลงและมีความหนืดลดลง

2.3.3 การเกิดแซคคาริฟิเคชัน

แซคคาริฟิเคชันเป็นขั้นตอนของการย่อยกลูโคสในแป้งให้เป็นโมเลกุลของน้ำตาลที่มีขนาดเล็กลง ซึ่งภายหลังการย่อยจะทำให้ได้น้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว (monosaccharide) น้ำตาลโมเลกุลคู่ (disaccharide) หรือน้ำตาลที่มีโมเลกุลสูงกว่าเล็กน้อย เช่น มอลโทไตรโอส (maltotriose)



ภาพที่ 2 กลไกของการเกิดเจลของเม็ดแป้ง (Ramson, Clark, 1988)

2.4 การผลิตน้ำเชื่อมจากกากมันสำปะหลัง

เนื่องจากกระบวนการผลิตน้ำเชื่อมจากการย่อยกากมันสำปะหลัง จะมีลักษณะคล้ายกับกระบวนการผลิตน้ำเชื่อมกลูโคสจากการย่อยแป้งมันสำปะหลังโดยตรง ซึ่งอาจจะเป็นการใช้กรดชนิดต่าง ๆ หรือการใช้เอนไซม์ย่อยแป้งแต่อย่างใดก็ตาม สภาพะของการย่อยกากมันสำปะหลังจะมีลักษณะที่แตกต่างจากการย่อยแป้งมันสำปะหลัง ซึ่งได้มีการศึกษาดังนี้

2.4.1 การย่อยกากมันสำปะหลังด้วยกรด

Srikanta *et al.* (1987) ได้พัฒนาเทคนิคในการย่อยแป้งที่มีอยู่ในกากมันสำปะหลัง เพื่อให้สามารถใช้กากมันสำปะหลังได้สูงขึ้น ซึ่งการใช้กากมันสำปะหลังความเข้มข้นร้อยละ 30 (โดยน้ำหนักต่อปริมาตร) ทำการย่อยด้วยกรดซัลฟิวริกที่มีความเข้มข้นร้อยละ 4 (โดยปริมาตร) พบว่าสามารถทำให้กากมันสำปะหลังเกิดแซคคาริฟิเคชันได้ โดยเกิดการเปลี่ยนแปลงของแป้งเป็นน้ำตาลรีดิซได้โดยสมบูรณ์ มีน้ำตาลเหลืออยู่ประมาณร้อยละ 24 ของปริมาณน้ำตาลทั้งหมด โดยใช้วิธี counter-current extraction technique เมื่อขยายขนาดการผลิตโดยใช้กากมัน

75 กิโลกรัม ทำให้เกิดแซคคาริฟิเคชัน จะได้สารละลายน้ำตาลปริมาตร 75 ลิตร ที่มีน้ำตาลรีดิวซ์เข้มข้นเท่ากับร้อยละ 15 (โดยน้ำหนักต่อปริมาตร)

Jaleel *et al.* (1988) ได้ศึกษาการหมักเพื่อผลิตเอทานอลโดยใช้สารละลายน้ำตาลที่มีน้ำตาลรีดิวซ์เริ่มต้นเท่ากับร้อยละ 16.5 (โดยน้ำหนักต่อปริมาตร) ซึ่งได้จากการย่อยกากมันสำปะหลังที่มีความเข้มข้นร้อยละ 30 (โดยน้ำหนักต่อปริมาตร) ด้วยกรดซัลฟิวริกที่มีความเข้มข้นร้อยละ 2.5 (โดยปริมาตร) พบว่าผลได้ของเอทานอลจะมีค่าสูงที่สุด และมีน้ำตาลรีดิวซ์เหลืออยู่น้อยที่สุด นอกจากนี้ยังพบว่า การเพิ่มความเข้มข้นของเอนไซม์กลูโคสอะไมเลสในการย่อยกากมันสำปะหลังจะไม่ทำให้ความเข้มข้นของน้ำตาลรีดิวซ์มีค่าลดลง และเมื่อทำการหมักพบว่า ผลได้ของเอทานอลจะมีค่าเพิ่มสูงขึ้น

จิรวรรณ อภิรักษากร (2540) ได้ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับใช้ในการย่อยกากมันสำปะหลังด้วยกรดชนิดต่าง ๆ พบว่าการใช้กากมันสำปะหลังที่มีมวลน้ำหนักร้อยละ 5 กรัม ทำการย่อยด้วยกรดซัลฟิวริกที่มีความเข้มข้น 1 โมลาร์ ปริมาตร 10 มิลลิลิตร ที่ระดับอุณหภูมิ 115° ซ เป็นเวลา 30 นาที ได้น้ำเชื่อมกลูโคสที่มีความเข้มข้นเท่ากับ 158.55 กรัมต่อลิตร

2.4.2 การย่อยกากมันสำปะหลังด้วยเอนไซม์

จิรวรรณ อภิรักษากร (2540) ได้ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับใช้ในการย่อยกากมันสำปะหลังที่มีมวลน้ำหนักร้อยละ 5 กรัม โดยการทำให้เกิดลิเคอแฟชันด้วยเอนไซม์ แอลฟา-อะไมเลส ปริมาตร 500 หน่วย เป็นเวลา 40 นาที จากนั้นทำให้เกิดแซคคาริฟิเคชันต่อด้วยเอนไซม์อะไมโลกลูโคซิเดส ปริมาตร 300 หน่วยเป็นเวลา 24 ชั่วโมง อย่างไรก็ตามสามารถที่จะลดปริมาณการใช้เอนไซม์ลงได้โดยทำให้เกิดลิเคอแฟชันด้วยเอนไซม์ แอลฟา-อะไมเลส (BAN480L) ปริมาตร 500 หน่วยเป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นนำเอาเฉพาะส่วนสารละลายที่ได้มาทำการย่อยต่อเพื่อให้เกิดแซคคาริฟิเคชัน โดยใช้อัตราส่วนสารละลาย 50 มิลลิลิตรต่อเอนไซม์อะไมโลกลูโคซิเดส (SPEZYME) ปริมาตร 75 หน่วยเป็นเวลานาน 12 ชั่วโมง พบว่า เกิดการเปลี่ยนแปลงได้ร้อยละ 50.14 ของน้ำหนักรากมันสำปะหลังเริ่มต้น และได้น้ำเชื่อมกลูโคสที่มีความเข้มข้นเท่ากับ 40.44 กรัมต่อลิตร

ลิขิต ศิริสันติเมธาคม และคณะ (2543) ได้ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับใช้ในการผลิตน้ำเชื่อมกลูโคสจากการย่อยกากมันสำปะหลังด้วยเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส และอะไมโลกลูโคซิเดส ในถังปฏิกรณ์ชีวภาพระดับต้นแบบ ขนาด 50 ลิตร พบว่าสภาวะที่เหมาะสมสำหรับใช้ในการผลิตน้ำเชื่อมคือการใช้อากาศมันสำปะหลังเริ่มต้นเท่ากับร้อยละ 15 (โดยน้ำหนักต่อปริมาตร) ทำให้เกิดลิเคอแฟชันด้วยเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส ปริมาตร 300 หน่วยต่อมิลลิลิตร เป็นเวลา 40 นาทีที่อุณหภูมิ 70° ซ และจากนั้นทำการย่อยต่อเพื่อให้เกิดแซคคาริฟิเคชันด้วยเอนไซม์อะไมโลกลูโคซิเดส ปริมาตร 500 หน่วยต่อมิลลิลิตร เป็นเวลา 24 ชั่วโมง พบว่าสามารถที่จะทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงได้ร้อยละ 40.13 ของกากมันสำปะหลังเริ่มต้นหรือคิดเป็นน้ำตาลรีดิวซ์เข้มข้นเท่ากับ 40.15 กรัมต่อลิตร

2.5 จุลินทรีย์ที่ใช้ในการหมักเพื่อผลิตเอทานอล

โดยทั่วไปการหมักเครื่องดื่มน้ำประเภทแอลกอฮอล์ในประเทศแถบตะวันตก เช่น เบียร์ ไวน์ และ แชมเปญ เป็นต้น จะเป็นการหมักด้วยเชื้อยีสต์โดยเฉพาะสายพันธุ์ที่นิยมใช้มากที่สุดคือ *Saccharomyces cerevisiae* แต่สำหรับ

พื้นที่ในเขตร้อนของอเมริกา แอฟริกา และเอเชีย การหมักเครื่องดื่มประเภทแอลกอฮอล์จะเป็นอีกแบบหนึ่งที่ได้รับความนิยมเป็นอย่างมากและใช้กันอย่างกว้างขวาง ซึ่งเครื่องดื่มประเภทนี้ได้จากน้ำผลไม้ ที่ผ่านการหมักด้วยเชื้อจุลินทรีย์ผสมหลายชนิด ซึ่งมีทั้งแบคทีเรียจีนัส *Zymomonas* อย่างไรก็ตามในประเทศแถบยุโรปแบคทีเรียจีนัสนี้มักจะเจริญในเบียร์และเบียร์ที่เน่าเสีย รวมทั้งสามารถหมักน้ำแอปเปิล (cider) และเพอร์รี่ (perry) ได้ ในต้นปี ค. ศ. 1951 Gibbs, De Moss ได้รายงานว่แบคทีเรียจีนัสนี้สามารถที่จะใช้น้ำตาลกลูโคสได้ในสภาวะไร้ออกซิเจนโดยใช้ Entner–Doudoroff mechanism ซึ่งเป็นแบคทีเรียชนิดแรกที่สามารถดำรงชีวิตแบบไม่ใช้ออกซิเจนโดยใช้กลไกที่พบได้เฉพาะแบคทีเรียที่ไม่ต้องการออกซิเจนอย่างแท้จริงเท่านั้น (strictly anaerobic bacteria) นอกจากนี้ Gibbs, De Moss ยังได้รายงานว่แบคทีเรียจีนัส *Zymomonas* น่าจะมีรูปแบบของวิถีของกระบวนการทางชีวเคมีสัมพันธ์กับแบคทีเรียในแฟมิลี *Pseudomonadaceae* ทั้งนี้เพราะเซลล์ของแบคทีเรียจะมีลักษณะเป็นท่อนตรงและมีส่วนปลายโค้งเล็กน้อย เคลื่อนที่ได้โดยใช้แฟลกเจลลาที่ขั้วเซลล์ ย้อมติดสีกรัมลบ ไม่สร้างสปอร์ แต่อย่างไรก็ตามการดำรงชีวิตส่วนใหญ่ของแบคทีเรียจีนัส *Zymomonas* ไม่ต้องการออกซิเจน (Swings, De Ley, 1977)

2.6 แบคทีเรียจีนัส *Zymomonas*

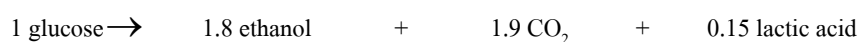
Zymomonas เป็นแบคทีเรีย ถ้าจัดจำแนกตาม Bergey's Manual of Determinative Bacteriology จะเป็น Gram-negative facultative anaerobic rods เซลล์จะมีลักษณะเป็นรูปแท่งที่มีปลายโค้ง ขนาดกว้าง 1-1.4 ไมครอน และยาว 2-6 ไมครอน มักอยู่เดี่ยว ๆ หรือเป็นคู่ ย้อมติดสีกรัมลบ ไม่สร้างสปอร์ เคลื่อนที่ได้โดยอาศัย แฟลกเจลลาที่ขั้วเซลล์ ไม่เจริญเติบโตในอาหารเลี้ยงเชื้อสูตร nutrient agar หรือ nutrient broth ไม่ต้องการออกซิเจนในการเจริญเติบโต แต่สามารถเจริญเติบโตได้ในที่มีออกซิเจน สามารถหมักน้ำตาลกลูโคส (glucose) และฟรุคโตส (fructose) ได้เอทานอล และก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ สามารถที่จะแบ่งแบคทีเรีย *Zymomonas* ออกได้เป็น 2 สปีชีส์ คือ *Z. mobilis* และ *Z. anaerobia* โดยอาศัยความสามารถในการหมักน้ำตาลของแบคทีเรีย *Z. mobilis* ที่สามารถหมักน้ำตาลกลูโคส ฟรุคโตส และซูโครส (sucrose) ได้ ส่วนแบคทีเรีย *Z. anaerobia* จะหมักน้ำตาลได้เพียง 2 ชนิดเท่านั้น คือ กลูโคส และฟรุคโตส แต่ไม่สามารถหมักน้ำตาลซูโครสได้ (Buchanan *et al.*, 1974) โดยคุณลักษณะของแบคทีเรีย *Zymomonas* มีดังต่อไปนี้

- 1) เซลล์รูปแท่ง มีความกว้าง 1-1.4 ไมครอน และยาว 2-6 ไมครอน
- 2) ย้อมติดสีกรัมลบ
- 3) ไม่สร้างสปอร์ได้
- 4) เคลื่อนที่ได้โดยอาศัยแฟลกเจลลาที่ขั้วเซลล์ที่มีจำนวน 1-4 อัน
- 5) ไม่เจริญเติบโตในอาหารเลี้ยงเชื้อสูตร nutrient broth และ nutrient agar
- 6) มักจะเจริญเติบโตในสภาพไร้ออกซิเจน แต่สามารถเจริญเติบโตในที่มีออกซิเจนได้แต่ช้ากว่า
- 7) หมักน้ำตาลกลูโคส ฟรุคโตส ได้เอทานอลและก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ ที่มีจำนวนโมลใกล้เคียงกัน
- 8) ไม่มีกิจกรรมของเอนไซม์ออกซิเดส (oxidase)
- 9) ร้อยละของเบส G + C อยู่ระหว่างร้อยละ 47.5-49.5

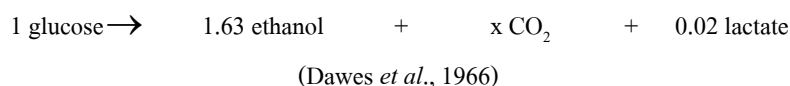
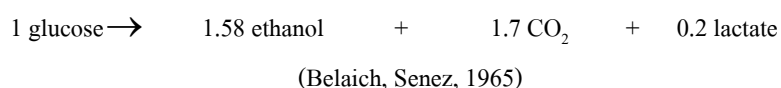
คุณลักษณะทั้ง 9 อย่างนี้สามารถนำไปใช้ในการพิจารณาแบคทีเรียในจินตน์นี้ได้ แต่ Hendrie, Shewan (1966) ได้เสนอให้ใช้คุณลักษณะที่สำคัญ 3 อย่างดังนี้คือ 1) เป็น Gram-negative rods 2) เคลื่อนที่โดยอาศัยแฟลกเจลลาที่ขั้วเซลล์ และ 3) เจริญเติบโตได้ในสภาวะไร้ออกซิเจนเท่านั้น นอกจากนี้ Ault (1965) ได้เสนอให้ใช้คุณลักษณะที่สำคัญไว้ 3 อย่างเช่นกันคือ 1) เป็นแบคทีเรียกรัมลบ 2) ไม่สร้างกรดจากเอทานอล และ 3) สามารถหมักน้ำตาลกลูโคสได้เอทานอล

ก. คatabolicism ของน้ำตาลเฮกโซสโดยแบคทีเรีย *Z. mobilis* ATCC 10988

Kluyver, Hoppenbrouwers (1931) ได้ศึกษาการหมักน้ำตาลกลูโคสโดยใช้แบคทีเรีย *Z. mobilis* ATCC 10988 พบว่าการหมักจะเกิดขึ้นอย่างรวดเร็ว เมื่อทำการหมักเป็นเวลา 10 วัน ที่อุณหภูมิ 30° ซ และจะเพิ่มมากขึ้นเมื่อหมักต่อไปอีกเป็นเวลา 2 วัน ซึ่งทำให้น้ำตาลกลูโคสเกิดการหมักได้อย่างสมบูรณ์ แต่พบว่ามีกรดแลคติกและอะเซตัลดีไฮด์เกิดขึ้นเพียงเล็กน้อย สำหรับการหมักที่มีการใช้ yeast extract จะให้เกิดกรดซัคซินิก (succinic acid) แต่จะไม่พบกรดชนิดนี้เมื่อใช้ K_2HPO_4 $(NH_4)_2SO_4$ และ $MgSO_4$ ร้อยละ 0.1 0.1 และ 0.05 (โดยน้ำหนักต่อปริมาตร) ตามลำดับ แทนการใช้ yeast extract นอกจากนี้จากการศึกษาของ Kluyver, Hoppenbrouwers สามารถที่จะแสดงในรูปของ molar fermentation equation ได้ดังนี้



นอกจากนี้ได้มีการรายงานผลของการหมักน้ำตาลกลูโคสโดยใช้แบคทีเรีย *Z. mobilis* NCIB 8938 ซึ่งสามารถที่จะแสดงในรูปของ molar fermentation equation ได้ดังนี้



ในปี ค.ศ. 1931 Neuberg, Kobel ได้ศึกษาเกี่ยวกับสารมัธยันตร์ (intermediates) ที่เกิดขึ้นจากแบคทีเรียในกลุ่มของ Lindner (1931) พบว่ากรดไพรูวิก (pyruvic acid) จะถูกดึงเอาหมู่มาร์บอนิล (carbonyl group) ออกจากโมเลกุลได้ผลิตภัณฑ์เป็นอะเซตัลดีไฮด์ ซึ่งหลังจากนั้นอะเซตัลดีไฮด์จะถูกนำไปใช้ในกระบวนการหมักต่อไปสำหรับกลูโคส-6-ฟอสเฟต (glucose-6-phosphate) และเฮกโซสไดฟอสเฟต (hexose diphosphate) พบว่าจะถูกดึงเอาหมู่มฟอสเฟตออก และจะถูกนำไปใช้ในกระบวนการหมักต่อไป นอกจากนี้ยังพบว่ามีกระบวนการเติมหมู่

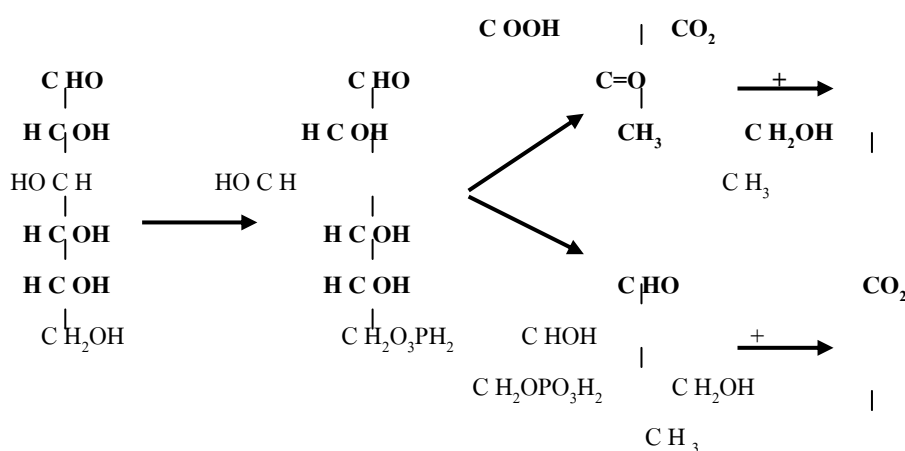
ฟอสเฟต (phosphorylation) เกิดขึ้น ซึ่ง Neuberg, Kobel ได้สรุปว่าไม่พบกระบวนการไกลโคไลซิส (glycolysis) เกิดขึ้น

ในปี ค. ศ. 1934 Schreder *et al.* พบว่าน้ำตาลกลูโคสร้อยละ 98 (โดยน้ำหนักต่อปริมาตร) จะถูกเปลี่ยนเป็นเอทานอลและก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ แต่พบว่ามีอะเซตัลดีไฮด์ อะเซทิลเมทิลคาร์บินอล กรดอะเซติก และกลีเซอรอล เกิดขึ้นเพียงเล็กน้อย

ในปี ค.ศ. 1951 Gibbs, De Moss ได้ทำการศึกษาการหมักน้ำตาลกลูโคสของแบคทีเรีย *Z. mobilis* ATCC 10988 พบว่ากิจกรรมเกือบทั้งหมดของน้ำตาลกลูโคส ($1-^{14}\text{C}$) จะถูกสะสมไว้ในรูปของ CO_2 หรือประมาณครึ่งหนึ่งของกิจกรรมของน้ำตาลกลูโคส ($1-^{14}\text{C}$) จะถูกปลดปล่อยออกมาในรูปของ CO_2 ส่วนที่เหลือจะอยู่ในรูปของเอทานอล

ในปี ค.ศ. 1954 Gibbs, De Moss ได้ค้นพบว่ากลไกพื้นฐานของการสลายน้ำตาลกลูโคสและฟรุกโตสของแบคทีเรีย *Zymomonas* นั้นจะเป็นรูปแบบของ Entner - Doudoroff pathway โดยรูปแบบของการเปลี่ยนแปลงของน้ำตาลกลูโคสได้แสดงไว้ในภาพที่ 3

ในปี ค. ศ. 1960 Stern *et al.* ได้ทำการทดลองและยืนยันสมมติฐานของการเปลี่ยนแปลงน้ำตาลกลูโคสที่ได้จากการศึกษาของ Gibbs, De Moss (1954) โดยใช้วิธี radiorespirometric method ซึ่งหลังจากนั้นต่อมาได้มีการนำเอา Entner-Doudoroff mechanism มาทดลองและยืนยันผลการทดลองในระดับของเอนไซม์อย่างกว้างขวาง โดยเฉพาะการศึกษาเกี่ยวกับการหมักน้ำตาลกลูโคส-6-ฟอสเฟตโดยใช้สารสกัดจากเซลล์ (cell-free extract) พบว่าผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นจะเป็นเอทานอลและก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ ซึ่งสารสกัดจากเซลล์จะมีส่วนประกอบที่เป็นเอนไซม์ฟอสโฟเฮกโซไอโซเมอเรส (phosphohexoisomerase) และ NAD -ลิงค์ ดีไฮโดรจีเนส (NAD-linked dehydrogenase) สำหรับใช้ในการสลายกลูโคส-6-ฟอสเฟต ส่วนฟรุกโตส-1,6-ฟอสเฟต (fructose-1,6-phosphate) จะถูกย่อยด้วยเอนไซม์อัลโดเลส (aldolase) และ กลีเซอรอลดีไฮด์-3-ฟอสเฟต NAD-ลิงค์ ดีไฮโดรจีเนส (glyceraldehyde-3-phosphate NAD-linked dehydrogenase) อย่างไรก็ตามมีรายงานว่าไม่พบเอนไซม์ฟอสโฟเฮกโซไอโซเมอเรส



ภาพที่ 3 สมมติฐานของการเปลี่ยนน้ำตาลกลูโคสเป็นเอทานอลและก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์

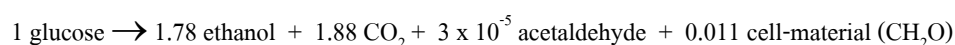
(Swings, De Ley, 1977)

ในปี ค.ศ. 1961 Ribbons, Dawes และ Dawes *et al.* (1966) ได้ศึกษาเพื่อหาชนิดของเอนไซม์ในแบคทีเรีย *Z. mobilis* NCIB 8938 พบว่า crude extract ที่เติมสาร ATP สามารถที่จะเปลี่ยนน้ำตาลกลูโคสและกลูโคนेट (gluconate) เป็นไพรูเวต (pyruvate) ได้ นอกจากนี้ยังพบว่าไพรูเวตและกลีเซอรอลดีไฮด์-3-ฟอสเฟต (glyceraldehyde-3-phosphate) ที่เกิดขึ้นจากการสลายกลูโคนेट-6-ฟอสเฟต (gluconate-6-phosphate) สามารถที่จะถูกจับด้วยสารไฮดราซีน (hydrazine) ได้ในความเข้มข้นที่เท่ากัน สำหรับการเปลี่ยนกลีเซอรอลดีไฮด์-3-ฟอสเฟตเป็นไพรูเวต พบว่าต้องการ NAD^+ ADP และ inorganic phosphate รวมทั้งพบว่าสาร 2-คีโต-3-ดีออกซีกลูโคนต-6-ฟอสเฟต (2-keto-3-deoxygluconate-6-phosphate) ถูกสร้างมาจากกลูโคนต-6-ฟอสเฟต นอกจากนี้ยังพบว่ามีกิจกรรมของเอนไซม์เฮกโซไคเนส (hexokinase) กลูโคนไคเนส (gluconokinase) กลูโคสดีไฮโดรจีเนส (glucose dehydrogenase) และไพรูเวตดีคาร์บอกซิเลส (pyruvate decarboxylase) เกิดขึ้น สำหรับกิจกรรมของเอนไซม์กลูโคส-6-ฟอสเฟต ดีไฮโดรจีเนส (glucose-6-phosphate dehydrogenase) พบว่ามีความสามารถในการรีดิวซ์ NAD^+ หรือ NADP^+ ได้ และ NAD^+ จะมีความจำเพาะต่อการทำงานของเอนไซม์เอทานอล/ไตรโอสฟอสเฟตดีไฮโดรจีเนส (ethanol/triose phosphate dehydrogenase) ใน crude extract อย่างไรก็ตามจากการศึกษาพบว่าไม่พบกิจกรรมของเอนไซม์ NADPH ออกซิเดส (NADPH oxidase) กลูโคนตดีไฮโดรจีเนส (gluconate dehydrogenase) และฟรุคโตส-1,6-ฟอสเฟต อัลโดเลส (fructose-1,6-phosphate aldolase) แต่ Raps, De Moss (1962) ได้รายงานว่าสามารถที่จะตรวจพบกิจกรรมของเอนไซม์อัลโดเลสแต่ยังไม่ได้รับการยืนยัน

ในปี ค.ศ. 1968 Sly, Doelle ได้อธิบายถึงผลจากการศึกษาจลนพลศาสตร์ของเอนไซม์ กลูโคส-6-ฟอสเฟต ดีไฮโดรจีเนส และ NADP^+ พบว่าค่าคงที่ของ Michaelis (K_m) ของเอนไซม์ชนิดนี้จะมีค่าเท่ากับ 5×10^{-4} โมลาร์ และในขณะที่ค่าคงที่ของ Michaelis (K_m) ของ NADP^+ จะมีค่าเท่ากับ 3.6×10^{-5} โมลาร์ นอกจากนี้ยังพบว่าเอนไซม์ของแบคทีเรีย *Zymomonas* จะมีความแตกต่างอย่างมากเมื่อเปรียบเทียบกับเอนไซม์ของแบคทีเรีย *E. coli* และเชื้อจุลินทรีย์อื่น ๆ

ข) คะตาโบลิซึมของน้ำตาลเฮกโซสโดยแบคทีเรีย *Z. anaerobia* NCIB 8777

ในปี ค.ศ. 1965 Mc Gill *et al.* และ Mc Gill, Dawes (1971) ได้เปรียบเทียบการเจริญเติบโตและผลิตเอทานอลของแบคทีเรีย *Z. anaerobia* NCIB 8777 กับแบคทีเรีย *Z. mobilis* NCIB 8938 พบว่าแบคทีเรีย *Z. anaerobia* NCIB 8777 มีการเจริญเติบโตช้ากว่า และให้ผลได้ของเอทานอลต่ำกว่าแบคทีเรีย *Z. mobilis* NCIB 8938 โดยที่ค่า molar growth yield coefficients ของน้ำตาลกลูโคสและฟรุคโตสของแบคทีเรีย *Z. anaerobia* NCIB 8777 มีค่าเท่ากับ 5.89 และ 5.0 ตามลำดับ นอกจากนี้ยังพบว่าน้ำตาลกลูโคสประมาณร้อยละ 2 (โดยน้ำหนักต่อปริมาตร) จะถูกนำไปใช้ในการสังเคราะห์ส่วนประกอบต่าง ๆ ของเซลล์ ความสามารถในการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย *Z. anaerobia* NCIB 8777 มีประสิทธิภาพต่ำ ซึ่งเมื่อทำการหมักน้ำตาลเฮกโซส 2 ชนิด สามารถแสดงในรูปของ molar fermentation equation ได้ดังนี้



เมื่อคำนวณสมดุลของคาร์บอน (carbon balance) มีค่าเท่ากับร้อยละ 90 แสดงว่าคาร์บอนมีการสูญเสียไปในรูปอื่น



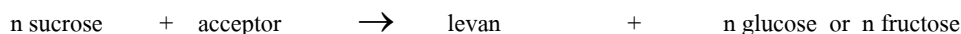
เมื่อคำนวณสมดุลของคาร์บอนจะมีค่าเท่ากับร้อยละ 77 โดยที่ไม่พบสารประกอบที่มี 3 คาร์บอนเกิดขึ้น และผลิตภัณฑ์ที่ไม่ต้องการที่เกิดขึ้นจากเมตาโบลิซึมของฟรุกโตส ได้แก่ กลีเซอรอล ไดไฮดรอกซีอะซิโตน และสารอื่น ๆ อีกหลายชนิดที่ยังคงไม่สามารถพิสูจน์ได้

จากการศึกษาได้มีการค้นพบเอนไซม์ต่อไปนี้ ซึ่งสามารถจัดเรียงลำดับตามการลดลงของกิจกรรมที่จำเพาะ (specific activity) ของเอนไซม์ดังนี้ กลูโคส-6-ฟอสเฟต ดีไฮโดรจีเนส $\text{NAD}^+/\text{NADP}^+$ -เอทานอลดีไฮโดรจีเนส ($\text{NAD}^+/\text{NADP}^+$ -ethanol dehydrogenase) NAD^+ -ไพรูเวตดีคาร์บอกซิเลส (NAD^+ - pyruvate decarboxylase) กลูโคเนส-6-ฟอสเฟต ดีไฮโดรจีเนส 2-คีโต-3-ดีออกซีกลูโคเนส-6-ฟอสเฟต อัลโดเลส (2-keto-3-deoxygluconate-6-phosphate aldolase) ไทรโอสฟอสเฟตดีไฮโดรจีเนส NAD^+ -ฟอสโฟเฮกโซไอโซเมอเรส กลูโคไโคเนส และฟรุกโตไโคเนส สำหรับเอนไซม์ที่มีกิจกรรมซ้ำถึงซ้ำมากมีดังนี้คือ ฟอสโฟฟรุกโตไโคเนส (phosphofructokinase) ฟรุกโตส-1,6-ฟอสเฟตอัลโดเลส (fructose-1,6-phosphate aldolase) NADH ออกซิเดส กลูโคส-6-ฟอสเฟตดีไฮโดรจีเนส $\text{NADP}^+/\text{NADPH}$ ออกซิเดส กลูโคไโคเนส กลูโคสดีไฮโดรจีเนส ส่วนเอนไซม์ที่ตรวจไม่พบได้แก่ $\text{NADP}^+/\text{NAD}^+$ ทรานไฮโดรจีเนส ($\text{NADP}^+/\text{NAD}^+$ transhydrogenase) ทรานสคีโตเลส (transketolase) ฟอสโฟคีโตเลส (phosphoketolase) และทรานสอัลโดเลส (transaldolase) ส่วนสารมัธยันตร์หลัก (key intermediate) คือ 2-คีโต-3-ดีออกซีกลูโคเนส-6-ฟอสเฟต ซึ่งได้จากการวิเคราะห์ด้วย paper chromatography อย่างไรก็ดีตามยังไม่สามารถที่จะแยกหรือพิสูจน์เอกลักษณ์ได้

ในปี ค.ศ.1966 Dawes *et al.* ได้อธิบายถึงความสำคัญของกลไกของเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับเมตาโบลิซึมของน้ำตาลซูโครส โดยค้นพบว่าแบคทีเรีย *Z. mobilis* NCIB 8938 สามารถที่จะผลิตสารลิแวน(levan) ได้จากน้ำตาลซูโครสแต่ไม่สามารถผลิตได้จากน้ำตาลกลูโคสและฟรุกโตสหรือจากสารละลายน้ำตาลทั้งสองชนิดรวมกัน ซึ่งการใช้น้ำตาลซูโครส 640 กรัมในอาหารเลี้ยงเชื้อปริมาตร 32 ลิตรจะเกิดโพลิเมอร์ของสารลิแวนประมาณ 4.5 กรัม น้ำหนักแห้ง หรือให้ผลได้ของสารลิแวนน้อยกว่าร้อยละ 2 (โดยน้ำหนักต่อปริมาตร) สารลิแวนที่ผลิตจากแบคทีเรีย *Zymomonas* มักจะพบได้โดยทั่วไปจากเมล็ดของแบคทีเรียกลุ่มที่สร้างสารลิแวน ซึ่งสารลิแวนจะมีน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 10^7 ดาลตัน หรือมีน้ำตาลฟรุกโตสเป็นองค์ประกอบเพียงอย่างเดียวประมาณ 60,000 หน่วย การต่อเชื่อมโครงสร้างหลักโพลิเมอร์จะเป็นแบบเบต้า-2,6-linkage ระหว่างวงแหวนฟิวเรโนส (furanose ring) สำหรับการต่อเชื่อมของจุดแยก (branching) จะเป็นแบบเบต้า-2,1-linkage และพบว่าระหว่างที่มีการสังเคราะห์ลิแวนจะมีการใช้น้ำตาลกลูโคสเร็วกว่าน้ำตาลฟรุกโตส อย่างไรก็ตามการสร้างสารลิแวนจะไม่เกิดขึ้นถ้าความเข้มข้นของน้ำตาลซูโครสเท่ากับ 0.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และถ้าไม่มีน้ำตาลฟรุกโตสอิสระเหลืออยู่ การหมักจะดำเนินต่อไปโดยที่ไม่มีการสร้างสารลิแวน ซึ่งสารลิแวนสามารถที่จะถูกสังเคราะห์ขึ้นได้จากน้ำตาลซูโครสโดยใช้ crude extract ของแบคทีเรีย *Zymomonas* และได้จากน้ำตาลแรฟฟิโนสที่ปราศจากไพรเมอร์ (primer) อย่างไรก็ดีตามพบว่าเอนไซม์ลิแวนซูเครส (levansucrase) ที่พบในแบคทีเรีย *Zymomonas* จะมีความแตกต่างจากเอนไซม์ลิแวนซูเครสที่พบในแบคทีเรีย *Acetobacter levanicum* และ *Bacillus subtilis*

จากการศึกษาของ Dawes *et al.* (1966) พบว่าน้ำตาลซูโครสน้อยกว่าร้อยละ 10 (โดยน้ำหนักต่อปริมาตร) จะถูกเปลี่ยนโดยเอนไซม์ลิแวนซูเครสเป็นสารลิแวนและน้ำตาลกลูโคส ซึ่งวิธีหลักของการสลายน้ำตาล

ซูโครสจะเริ่มต้นหลังจากการย่อยสลายเป็นน้ำตาลกลูโคสและฟรุกโตส อย่างไรก็ตาม Dawes *et al.* (1966) ไม่ได้พิสูจน์ว่ามีเอนไซม์อินเวอร์เทส (invertase) อิสระอยู่หรือไม่ แต่ได้มีการเสนอผลที่ได้จากการทดลองว่าเอนไซม์ลิแวนซูเครสสามารถที่จะเร่งปฏิกิริยาของการสร้างสารลิแวนและการสลายน้ำตาลซูโครสดังนี้



ถ้า acceptor คือน้ำตาลฟรุกโตส สารลิแวนจะถูกสร้างขึ้น แต่ถ้า acceptor คือน้ำตาลกลูโคส จะถูกย่อยสลาย

2.7 งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการหมักเพื่อผลิตเอทานอลโดยใช้แบคทีเรีย *Z. mobilis*

Rogers *et al.* (1980) ได้ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการหมักเพื่อผลิตเอทานอลโดยใช้แบคทีเรีย *Z. mobilis* ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีน้ำตาลกลูโคสร้อยละ 10-25 (โดยน้ำหนักต่อปริมาตร) ทำการหมักแบบกะ พบว่าแบคทีเรีย *Z. mobilis* สามารถเปลี่ยนน้ำตาลกลูโคสเป็นเอทานอลได้อย่างรวดเร็ว เมื่อเปรียบเทียบกับเชื้อยีสต์ *Saccharomyces uvarum* พบว่าแบคทีเรีย *Z. mobilis* จะมีอัตราจำเพาะของการใช้น้ำตาลกลูโคสกับอัตราจำเพาะของการผลิตเอทานอลสูงกว่ายีสต์ และให้มวลเซลล์ต่ำกว่าดังแสดงในตารางที่ 2 ซึ่งได้เปรียบเทียบการหมักเพื่อผลิตเอทานอลของจุลินทรีย์ทั้ง 2 ชนิด โดยทำการหมักในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีน้ำตาลกลูโคสเท่ากับ 250 กรัมต่อลิตร ที่อุณหภูมิ 30° ซ ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เริ่มต้นเท่ากับ 5.0 ทำการหมักแบบกะ

Lavers *et al.* (1980) ได้ศึกษาการหมักเพื่อผลิตเอทานอลแบบกะโดยใช้แบคทีเรีย *Z. mobilis* ATCC 29191 และเชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* ATCC 4126 พบว่าอัตราจำเพาะของการใช้น้ำตาลและอัตราจำเพาะของการผลิตเอทานอลของแบคทีเรียจะสูงกว่ายีสต์ คืออัตราจำเพาะของการใช้น้ำตาลกลูโคสของแบคทีเรียจะมีค่าเท่ากับ 10.5 กรัมกลูโคสต่อกรัมมวลเซลล์ต่อชั่วโมง ในขณะที่ยีสต์จะมีค่าเท่ากับ 1.7 กรัมกลูโคสต่อกรัมมวลเซลล์ต่อชั่วโมง และอัตราจำเพาะของการผลิตเอทานอลของแบคทีเรียเท่ากับ 5.67 กรัมเอทานอลต่อกรัมมวลเซลล์ต่อชั่วโมง ส่วนยีสต์จะมีค่าเท่ากับ 0.67 กรัมเอทานอลต่อกรัมมวลเซลล์ต่อชั่วโมง นอกจากนี้ยังพบว่าแบคทีเรีย *Z. mobilis* ATCC 29191 สามารถที่จะใช้น้ำตาลกลูโคส ฟรุกโตสได้ แต่จะไม่สามารถใช้น้ำตาลมอลโตสและแลคโตสได้

Viikari *et al.* (1980) ได้ศึกษาการหมักเพื่อผลิตเอทานอลจากสารละลายน้ำตาลที่ได้จากการย่อยวัสดุจำพวกเซลลูโลสด้วยเอนไซม์เซลลูเลส ที่เตรียมขึ้นจากเชื้อรา *Trichoderma reesei* ทำการเติมกลีเซอรอลและแบคทีเรียจำนวน 8 สายพันธุ์ ทำการหมักที่อุณหภูมิ 30° ซ พบว่าแบคทีเรีย *Zymomonas* ทั้ง 8 สายพันธุ์สามารถที่จะผลิตเอทานอลได้จากสารละลายน้ำตาลได้เท่ากับหรือสูงกว่าเชื้อยีสต์ แต่เมื่อเพิ่มอุณหภูมิขึ้นสูงถึง 40° ซ พบว่าความเข้มข้นของเอทานอลที่ผลิตได้จะมีค่าลดลงประมาณร้อยละ 50-60 (โดยน้ำหนักต่อปริมาตร)

Skotnicki *et al.* (1981) ได้ศึกษาเปรียบเทียบการผลิตเอทานอลโดยใช้แบคทีเรีย *Zymomonas* จำนวน 11 สายพันธุ์ ทำการหมักแบบกะ ที่อุณหภูมิ 30° ซ พบว่าเมื่อใช้น้ำตาลกลูโคสหรือซูโครสเริ่มต้นเท่ากับ 100 กรัมต่อลิตร แบคทีเรีย *Z. mobilis* CP4 สามารถที่จะผลิตเอทานอลได้สูงที่สุดคือ 33.7 และ 25 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ โดยใช้ระยะเวลาในการหมักนาน 20 ชั่วโมง เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคสหรือซูโครสเป็น 200 กรัมต่อลิตร พบว่าแบคทีเรีย *Z. mobilis* CP4 ยังคงที่จะผลิตเอทานอลได้สูงกว่าสายพันธุ์อื่น ๆ คือ 2.00 และ 1.21 กรัมต่อลิตร

ต่อชั่วโมง ตามลำดับ และเมื่อทำการศึกษาถึงผลของอุณหภูมิต่อการผลิตเอทานอล พบว่าเมื่อทำการหมักที่อุณหภูมิ 30° ซ ที่ความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคสหรือซูโครสเท่ากับ 200 กรัมต่อลิตร แบคทีเรีย *Z. mobilis* CP4 สามารถที่จะผลิตเอทานอลได้สูงที่สุดคือ 81 และ 56 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ ดังนั้นอุณหภูมิที่เหมาะสมที่สุดสำหรับการผลิตเอทานอลคือ 30° ซ นอกจากนี้ยังพบว่าประสิทธิภาพของการหมักเอทานอลจะลดลง เมื่ออุณหภูมิของการหมักมีค่าเพิ่มสูงขึ้นเกินกว่า 30° ซ

ตารางที่ 2 เปรียบเทียบการหมักเพื่อผลิตเอทานอลโดยแบคทีเรีย *Z. mobilis* และ *S. uvarum*

ค่าพารามิเตอร์জনপদসাত্র	<i>Z. mobilis</i>	<i>S. uvarum</i>
อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (ต่อชั่วโมง)	0.13	0.055
อัตราจำเพาะของการใช้น้ำตาลกลูโคส (กรัมน้ำตาลกลูโคสต่อกรัมมวลเซลล์ต่อชั่วโมง)	5.5	2.1
อัตราจำเพาะของการผลิตเอทานอล (กรัมเอทานอลต่อกรัมมวลเซลล์ต่อชั่วโมง)	2.5	0.87
ผลได้ของมวลเซลล์ (กรัมมวลเซลล์ต่อกรัมน้ำตาลกลูโคสที่ถูกใช้ไป)	0.019	0.033
ผลได้ของเอทานอล (กรัมเอทานอลต่อกรัมน้ำตาลกลูโคสที่ถูกใช้ไป)	0.47	0.44
ผลได้ของเอทานอลสัมพัทธ์	92.5	86.0
ความเข้มข้นสูงสุดของเอทานอล (กรัมต่อลิตร)	102.0	108.0

(Rogers *et al.*, 1980)

Ohta *et al.* (1981) ได้ศึกษาผลของสภาวะแวดล้อมที่มีต่อการหมักเพื่อผลิตเอทานอลโดยใช้แบคทีเรีย *Z. mobilis* พบว่าอุณหภูมิที่เหมาะสมมากที่สุดสำหรับการหมักของแบคทีเรีย *Z. mobilis* คือ 30° ซ และค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ที่เหมาะสมของอาหารเลี้ยงเชื้อคือ 7.0 เมื่อทำการหมักแบบที่มีการเติมน้ำตาลกลูโคสในระหว่างการหมัก พบว่ากระบวนการหมักจะเกิดขึ้นอย่างรวดเร็วเมื่อน้ำตาลกลูโคสเริ่มต้นเท่ากับร้อยละ 5 (โดยน้ำหนักต่อปริมาตร) โดยจะผลิตเอทานอลได้ร้อยละ 15.8 (โดยปริมาตร) แต่เมื่อความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคสเริ่มต้นเพิ่มสูงขึ้น พบว่าผลของการหมักจะเกิดขึ้นช้าและเอทานอลที่ผลิตได้จะมีค่าลดลง ถ้าทำการหมักโดยให้น้ำตาลกลูโคสเริ่มต้นในอาหารเลี้ยงเชื้อเท่ากับร้อยละ 30 (โดยน้ำหนักต่อปริมาตร) โดยที่ไม่มีการเติมน้ำตาลกลูโคสในระหว่างการหมัก พบว่าจะได้เอทานอลเท่ากับร้อยละ 12.2 (โดยปริมาตร) ในทางตรงกันข้ามการเติมน้ำตาลให้กับน้ำตาลกลูโคสเริ่มต้นในอาหารเลี้ยงเชื้อจะทำให้ได้ผลผลิตของเอทานอลเพิ่มสูงขึ้น ซึ่งการเพิ่มขึ้นของน้ำตาลกลูโคสในระหว่างการหมักจะเป็นแบบ semianaerobic ซึ่งจะให้ผลผลิตเอทานอลต่ำกว่าสภาวะที่เป็น strict anaerobiosis

Viikari (1984) ได้รายงานว่าการหมักน้ำตาลซูโครสโดยแบคทีเรีย *Z. mobilis* จะให้ผลผลิตเอทานอลต่ำกว่าการหมักน้ำตาลกลูโคส หรือฟรุคโตส ทั้งนี้เนื่องจากการหมักน้ำตาลซูโครสจะให้สารลิเวนและซอร์บิทอลเกิดขึ้น

Bringer *et al.* (1984) ได้ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการหมักเพื่อผลิตเอทานอลโดยใช้แบคทีเรีย *Z. mobilis* ATCC 29191 ทำการหมักแบบต่อเนื่องในถังปฏิกรณ์ชีวภาพ ขนาด 2 ลิตร ที่อุณหภูมิ 30° ซ ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) คงที่ 5.0 อัตราเจือจาง 0.08 ต่อชั่วโมง โดยเปรียบเทียบการหมักในสภาวะที่ไร้ออกซิเจนซึ่งใช้น้ำตาลกลูโคสเริ่มต้น 3 ระดับคือ 11.1 100.2 และ 140.5 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ ส่วนในสภาวะที่มีออกซิเจน (ร้อยละ 10 ของ air saturation) ใช้น้ำตาลกลูโคสเริ่มต้น 3 ระดับคือ 10.4 100.2 และ 144.3 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ พบว่าการหมักในสภาวะไร้ออกซิเจนจะผลิตเอทานอลเท่ากับ 5.4 47.8 และ 63.4 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ และในสภาวะที่มีออกซิเจนจะมีค่าเท่ากับ 4.4 18.9 และ 20.1 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ นอกจากนี้ยังพบว่าในการหมักในสภาวะที่มีออกซิเจนจะมีการสะสมของอะเซตัลดีไฮด์เพิ่มสูงขึ้นตามความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคสที่เพิ่มขึ้น ซึ่งอะเซตัลดีไฮด์จะเป็นพิษต่อแบคทีเรียและทำให้แบคทีเรียไม่สามารถใช้น้ำตาลกลูโคสได้ สำหรับการหมักในสภาวะที่ไร้ออกซิเจน พบว่าการเจริญเติบโตของแบคทีเรียจะถูกยับยั้งโดยความเข้มข้นของเอทานอลเป็นสำคัญ อย่างไรก็ตามแบคทีเรีย *Z. mobilis* ATCC 29191 จะเจริญเติบโตได้ดีกว่าเมื่อเพาะเลี้ยงเชื้อในสภาวะไร้ออกซิเจน

เมื่อทำการขยายขนาดการหมักในสภาวะไร้ออกซิเจนในถังปฏิกรณ์ชีวภาพ ขนาด 7 ลิตร ที่มีอาหารเลี้ยงเชื้อปริมาตร 5 ลิตรโดยใช้น้ำตาลกลูโคสเริ่มต้นเท่ากับ 140.5 กรัมต่อลิตร ทำการหมักด้วยอัตราการเจือจางเท่ากับ 0.07 ต่อชั่วโมง เป็นเวลา 39 วัน โดยควบคุมระดับความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคสให้มีค่าเท่ากับ 0.1 กรัมต่อลิตร พบว่าความเข้มข้นของเอทานอลที่ผลิตได้จะมีค่าสูงไม่เกินกว่า 64 กรัมต่อลิตร ซึ่งความเข้มข้นของเอทานอลจะเพิ่มสูงขึ้นในช่วงระหว่างชั่วโมงที่ 20 ถึงชั่วโมงที่ 100 ของการหมัก ซึ่งหลังจากนั้นพบว่าการเปลี่ยนน้ำตาลกลูโคสจะเกิดขึ้นอย่างไม่สมบูรณ์ ซึ่งทำให้เกิดการยับยั้งแบคทีเรียในการผลิตเอทานอลตลอดระยะเวลาการหมักนาน 39 วัน นอกจากนี้ยังได้มีการศึกษาความเป็นไปได้ของการหมักเอทานอลจากสารละลายน้ำตาลที่ได้จากการย่อยแป้งที่เหลือจากกระบวนการผลิตแป้งสาลี (B starch) ซึ่งมีอยู่ประมาณร้อยละ 12-13 ของแป้งสาลีที่ผลิตได้ ซึ่งองค์ประกอบของ B starch ได้แสดงไว้ในตารางที่ 3 ทำการศึกษาการหมักเพื่อผลิตเอทานอลจากสารละลายน้ำตาลที่ได้จากการย่อย B starch ด้วยเอนไซม์อะไมโลกลูโคซิเดส ซึ่งมีน้ำตาลกลูโคสเริ่มต้นประมาณ 140 กรัมต่อลิตร

โดยที่สารละลายน้ำตาลไม่ต้องเติมแหล่งของเกลื่อแร่หรือสารอาหารอินทรีย์ ทำการนิ่งมาเชื่อก่อนที่จะเติมกล้าเชื้อเริ่มต้นเท่ากับ 100 มิลลิลิตรที่ผ่านการล้างเอาเฉพาะเซลล์ด้วย NaCl ร้อยละ 0.9 (โดยน้ำหนักต่อปริมาตร) ทำการหมักแบบกะ ที่อุณหภูมิ 30° ซ พบว่าการหมักจะเกิดขึ้นได้อย่างสมบูรณ์ภายในเวลา 22 ชั่วโมง ซึ่งเอทานอลที่ผลิตได้จะมีความเข้มข้นประมาณ 80 กรัมต่อลิตร นอกจากนี้ยังพบว่าน้ำตาลรีดิวซ์ที่เหลือจากการหมักส่วนใหญ่จะเป็นน้ำตาลเพนโตส ซึ่งแบคทีเรีย *Z. mobilis* ไม่สามารถย่อยได้ นอกจากนี้ยังได้มีการศึกษาเปรียบเทียบสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีการเติมเกลื่อแร่และไม่เติมเกลื่อแร่ รวมทั้งกรดแพนโทเทนิค (pantothenic acid) พบว่าแบคทีเรีย *Z. mobilis* จะมีการเจริญเติบโตได้ดีในอาหารเลี้ยงเชื้อที่เติมทั้งเกลื่อแร่และกรดแพนโทเทนิค ซึ่งดีกว่าอาหารเลี้ยงเชื้อที่ไม่เติมทั้งเกลื่อแร่และกรดแพนโทเทนิค

นอกจากนี้ยังพบว่าการทำให้แป้งเกิดแซคคาริฟิเคชันด้วยเอนไซม์จะถูกจำกัด ทั้งนี้เพราะเอนไซม์อะไมโลไกลโคซิเดส จะทำงานได้ดีที่อุณหภูมิ 60° ซ แต่สภาวะของการหมักจะควบคุมไว้ที่ 30° ซ ซึ่ง Lee *et al.* (1983 อ้างถึงใน Bringer *et al.*, 1984) ได้ศึกษาการทำให้ลิเคอแฟคชันของแป้งมันฝรั่งเกิดแซคคาริฟิเคชันสำหรับใช้ในกระบวนการหมัก พบว่าถ้าเพิ่มอุณหภูมิของการหมักเป็น 35° ซ จะต้องใช้เอนไซม์เพิ่มขึ้นถึง 3.5 เท่าของเอนไซม์ที่ใช้ที่อุณหภูมิ 30° ซ

ตารางที่ 3 องค์ประกอบของ B starch ที่เหลือจากกระบวนการผลิตแป้งสาลี

องค์ประกอบ	จำนวนเป็นกรัมต่อ 100 กรัมของสารละลาย B starch suspension
Total dry substance	134-150
Starch	96-120
Protein	9-13
Lipids	2-3
Pentose	5-7

(Bringer *et al.*, 1984)

Bringer *et al.* (1984) ได้ศึกษาเพิ่มเติมโดยทำการย่อยแป้งใน B starch ให้เกิดขึ้นอย่างสมบูรณ์ด้วยการย่อยด้วยเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส ร่วมกับเอนไซม์อะไมโลไกลโคซิเดส และเติมเกลื่อแร่ (หน่วยเป็นกรัมต่อ 100 มิลลิลิตรของสารละลายน้ำตาล) ได้แก่ $MgSO_4$ 0.2 $MgCl_2$ 0.2 $(NH_4)_2H_2PO_4$ 0.1 และเติมกรดแพนโทเทนิค 5 มิลลิกรัมต่อลิตร ทำการหมักโดยแปรผันความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคสเริ่มต้นเป็น 5 ระดับคือ 140 163 174 178 และ 190 กรัมต่อลิตร ทำการหมักแบบกะ โดยใช้ปริมาตรของอาหารเลี้ยงเชื้อจำนวน 200 ลิตร พบว่าผลได้ของเอทานอลที่ได้จะมีค่าอยู่ระหว่าง 0.45-0.49 กรัมเอทานอลต่อกรัมน้ำตาลกลูโคสที่ถูกใช้ไป เมื่อความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคสเพิ่มสูงขึ้นจาก 140 ถึง 190 กรัมต่อลิตร พบว่าอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะของแบคทีเรีย *Z. mobilis* จะมีค่าลดลงร้อยละ 75 อย่างไรก็ตาม พบว่าการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย *Z. mobilis* ในช่วงระยะพักตัวจะมีผลต่ออัตราผลผลิตของเอทานอล (overall productivity) ดังนั้นควรจะให้มีช่วงระยะพักตัวสั้นที่สุด หรือทำการหมักแบบต่อเนื่อง ซึ่งการศึกษาการหมักแบบต่อเนื่องในถังปฏิกรณ์ชีวภาพ ขนาด 5 ลิตร และ 15 ลิตร พบว่าสารละลาย

น้ำตาลที่ไม่เติมเกลือแร่ แต่เติมเฉพาะกรดแพนโทเทนิคอย่างเดียวนั้น แบคทีเรียสามารถที่จะเปลี่ยนน้ำตาลกลูโคสเป็นเอทานอลได้ถึงร้อยละ 99 โดยใช้อัตราการเจริญเติบโตในช่วง 0.06-0.08 ต่อชั่วโมง ซึ่งจะผลิตเอทานอลได้ประมาณ 3.6-4.5 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง นอกจากนี้ยังพบว่าสารละลายน้ำตาลที่ได้มีสารอาหารที่เป็นสารอินทรีย์มากเพียงพอที่จะสามารถทดแทนการใช้ yeast extract ได้ นอกจากนี้ยังไม่พบว่ามีสารใด ๆ ในสารละลายน้ำตาลที่จะสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย *Z. mobilis*

Baratti *et al.* (1986) ได้ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการหมักเพื่อผลิตเอทานอลโดยใช้แบคทีเรีย *Z. mobilis* ZM4F JM1 ในอาหารเลี้ยงเชื้อสูตร fermentation media ที่ประกอบด้วย (หน่วยเป็นกรัมต่อลิตร) น้ำตาลกลูโคส 100 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 1 KH_2PO_4 2 $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.5 และเติมเฉพาะ yeast extract 5 กรัมต่อลิตร (อาหารเลี้ยงเชื้อสูตรอุดม) หรือ แคลเซียมแพนโทเทเนต 5 มิลลิกรัมต่อลิตร (อาหารเลี้ยงเชื้อสูตร ปรับต่ำ) สำหรับอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีน้ำตาลกลูโคส 100 กรัมต่อลิตร และเติมเฉพาะ yeast extract 5 กรัมต่อลิตร ทำการหมักแบบอย่างต่อเนื่องโดยใช้แบคทีเรีย *Z. mobilis* ZM4F JM1 เมื่อแปรผันอัตราการเจริญเติบโตตั้งแต่ D เท่ากับ 0.1 ต่อชั่วโมง จนกระทั่งถึง D เท่ากับ 2.0 ต่อชั่วโมง พบว่ามวลเซลล์จะมีความเข้มข้นสูงที่สุดในช่วง 15-20 กรัมต่อลิตร และเอทานอลจะมีค่ามากกว่า 40 กรัมต่อลิตร แต่จะมีค่าลดลงเมื่อค่า D เท่ากับ 1.5 ต่อชั่วโมง โดยมีผลได้ของเอทานอลมากถึง 0.45 กรัมเอทานอลต่อกรัมน้ำตาลกลูโคสที่ถูกใช้ไป นอกจากนี้ยังพบว่าอัตราผลผลิตของเอทานอลสูงที่สุดเท่ากับ 72 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง เมื่อทำการเพาะเลี้ยงแบคทีเรีย *Z. mobilis* ZM4F JM1 ในอาหารเลี้ยงเชื้อสูตรเดิมที่เติมเฉพาะแคลเซียมแพนโทเทเนตแทน yeast extract พบว่ามวลเซลล์มีความเข้มข้นในช่วง 20-25 กรัมต่อลิตร และเอทานอลที่ผลิตได้จะมีความเข้มข้นมากกว่า 40 กรัมต่อลิตร จนกระทั่งถึงค่า D เท่ากับ 1.8 ต่อชั่วโมง โดยมีค่าอัตราผลผลิตของเอทานอลสูงที่สุดเท่ากับ 75 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง และผลได้ของเอทานอลอยู่ในช่วง 0.48-0.50 กรัมเอทานอลต่อกรัมน้ำตาลกลูโคสที่ถูกใช้ไป เมื่อเปรียบเทียบผลของการหมักเอทานอลที่ได้จากอาหารเลี้ยงเชื้อทั้ง 2 สูตร พบว่าการเติมแคลเซียมแพนโทเทเนตจะให้ผลในการผลิตเอทานอลสูงกว่าการเติม yeast extract ดังนั้นจึงไม่มีความจำเป็นที่จะต้องเติม yeast extract นอกจากนี้ยังพบว่าการใช้แคลเซียมแพนโทเทเนตแทน yeast extract จะสามารถลดต้นทุนการผลิตเอทานอลลงได้มากถึง 100 เท่า

Kolios *et al.* (1989) ได้ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการหมักเพื่อผลิตเอทานอลโดยใช้แบคทีเรีย *Z. mobilis* ATCC 10988 *Z. mobilis* CP4 และ *Z. mobilis* NCIB 11163 ในการหมักน้ำผลไม้ และน้ำสกัดจากบีต (sugar beet) พบว่าแบคทีเรีย *Z. mobilis* ทั้ง 3 สายพันธุ์สามารถเจริญเติบโต และผลิตเอทานอลได้จากน้ำผลไม้ ซึ่งได้แก่ แอปเปิ้ล ส้ม ลูกท้อ แดงโม และจากบีต โดยไม่ต้องเติมสารอาหารใด ๆ อย่างไรก็ดี พบว่าน้ำแดงโมเป็นสารตั้งต้นที่ดีสำหรับการเจริญเติบโตและการผลิตเอทานอลของแบคทีเรีย *Z. mobilis* ทั้ง 3 สายพันธุ์ โดยที่แบคทีเรีย *Z. mobilis* CP4 สามารถเจริญเติบโตได้ดีที่สุดในน้ำสกัดทุกชนิด ส่วนแบคทีเรีย *Z. mobilis* NCIB 11163 จะไม่สามารถเจริญเติบโตได้ในน้ำสกัดจากบีต ในขณะที่แบคทีเรีย *Z. mobilis* ATCC 10988 จะสามารถเจริญเติบโตและผลิตเอทานอลได้ดีที่สุด โดยที่ผลได้ของเอทานอลจะมีค่าสูงที่สุดเมื่อทำการหมักในน้ำแอปเปิ้ล ส้ม และแดงโม นอกจากนี้ยังพบว่ามีผลพลอยได้เกิดขึ้น เช่น ไอโซเพนทานอล (isopentanol) กรดอะซิติก และฮีสทิดีนเกิดขึ้นเพียงเล็กน้อย รวมทั้งยังพบว่ามีสาร ฟอร์มัลดีไฮด์ เมทานอล ฟีนอล และแอลกอฮอล์ที่มีโมเลกุลสูงอื่น ๆ (higher alcohol) แต่จะไม่พบก๊าซไฮโดรเจนซัลไฟด์เกิดขึ้น

Kamini, Gunasekaran (1989) ได้ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการหมักเพื่อผลิตเอทานอลจากน้ำตาลแลคโตสโดยการหมักจุลินทรีย์แบบร่วมกัน (coculture) ระหว่างเชื้อยีสต์ *Kluyveromyces fragilis* กับแบคทีเรีย *Z. mobilis* ในอาหารเลี้ยงเชื้อสูตร complete medium ทำการหมักแบบกะ โดยแปรผันความเข้มข้นของน้ำตาลแลคโตสเป็น 4 ระดับคือ 100 150 200 และ 250 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ และใช้ปริมาณกลีเซอรีนเริ่มต้นเท่ากับร้อยละ 10 (โดยปริมาตร) โดยที่เชื้อยีสต์ *K. fragilis* NRRL 665 ได้ผ่านการเพาะเลี้ยงเพื่อปรับสภาพเซลล์ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่เติมกลูโคสหรือแลคโตสและอยู่ในช่วงที่มีการเจริญแบบทวีคูณ (log phase) พบว่าผลได้ของเอทานอลและผลได้ของมวลเซลล์จะมีค่าลดลงเมื่อความเข้มข้นของน้ำตาลแลคโตสเพิ่มขึ้นจาก 100 ถึง 250 กรัมต่อลิตร อย่างไรก็ตามพบว่าเมื่อความเข้มข้นของน้ำตาลแลคโตสเพิ่มขึ้นจาก 200 ถึง 250 กรัมต่อลิตร จะได้เอทานอลมีความเข้มข้นระหว่าง 48.83-52.98 กรัมต่อลิตร และเมื่อทำการหมักต่อไปอีกเป็นเวลา 48 ชั่วโมง พบว่าจะได้เอทานอลมีความเข้มข้นมากขึ้นในระหว่าง 53.51-55.06 กรัมต่อลิตร เมื่อทำการหมักร่วมกับแบคทีเรีย *Z. mobilis* NRRL 4286 และแบคทีเรีย *Z. mobilis* NRRL B1960 ที่ผ่านการเพาะเลี้ยงเพื่อปรับสภาพเซลล์เช่นเดียวกับเชื้อยีสต์ *K. fragilis* NRRL 665 พบว่าเมื่อใช้น้ำตาลแลคโตสเริ่มต้นเท่ากับ 250 กรัมต่อลิตร เชื้อยีสต์ *K. fragilis* NRRL 665 สามารถที่จะผลิตเอทานอลได้สูงถึง 61.3 กรัมต่อลิตร เมื่อหมักร่วมกันกับแบคทีเรีย *Z. mobilis* NRRL 4286 ซึ่งมีค่าสูงมากกว่าเมื่อหมักกับแบคทีเรีย *Z. mobilis* NRRL B1960 (58.0 กรัมต่อลิตร) จากการศึกษาพบว่าการผลิตเอทานอลจะเพิ่มสูงมากขึ้นเมื่อทำการหมักแบบร่วมกัน ทั้งนี้เพราะแบคทีเรีย *Z. mobilis* สามารถที่จะใช้น้ำตาลกลูโคสที่เกิดขึ้นจากการย่อยสลายของน้ำตาลแลคโตสได้เร็วกว่าเชื้อยีสต์ *K. fragilis* NRRL 665 แต่ในขณะเดียวกันเชื้อยีสต์ *K. fragilis* NRRL 665 สามารถที่จะใช้น้ำตาลกลูโคสได้อย่างรวดเร็วเช่นกัน อย่างไรก็ตามประสิทธิภาพในการเปลี่ยนน้ำตาลกลูโคสเป็นเอทานอลของแบคทีเรีย *Z. mobilis* ทั้ง 2 สายพันธุ์จะมีค่าสูงกว่าเชื้อยีสต์ *K. fragilis* NRRL 665

Doelle et al. (1989) ได้ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการหมักเพื่อผลิตเอทานอลจากแป้งข้าวโพด โดยการเติมกลีเซอรีนกับแบคทีเรีย *Z. mobilis* UQM 2716 แบบต่อเนื่องกัน (cascade) โดยที่ wet-mill corn ผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์กลูโคอะไมเลส ซึ่งจะได้สารละลายน้ำตาลที่มีน้ำตาลกลูโคสอยู่ประมาณร้อยละ 15-18 (โดยน้ำหนักต่อปริมาตร) และใช้น้ำแช่ข้าวโพด (corn steep water) เป็นแหล่งอาหารเสริมร้อยละ 25 (โดยปริมาตร) ทำการหมักโดยแปรผันความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคสเป็น 4 ระดับคือ 150 160 170 และ 180 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ ที่ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เริ่มต้นเท่ากับ 4.5 ที่ระดับอุณหภูมิ 32° ซ ในถังปฏิกรณ์ชีวภาพ ขนาด 10 ลิตร พบว่าประสิทธิภาพในการเปลี่ยนน้ำตาลกลูโคสเป็นเอทานอลจะอยู่ในช่วงร้อยละ 95-99 ซึ่งคิดเป็นความเข้มข้นของเอทานอลในช่วงระหว่างร้อยละ 9.3-11.18 (โดยปริมาตร) โดยใช้ระยะเวลาของการหมัก 24 ชั่วโมง จากการทดลองไม่พบปัญหาเกี่ยวกับการยับยั้งเนื่องจากความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคสเริ่มต้นที่มีค่ามากถึง 180 กรัมต่อลิตร หรือร้อยละ 18 (โดยน้ำหนักต่อปริมาตร) เมื่อทำการทดลองโดยใช้ dry-mill corn ที่ผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์เช่นเดียวกับ wet-mill corn พบว่าผลการทดลองที่ได้จะมีลักษณะแบบเดียวกัน สำหรับปัญหาในการใช้แป้งข้าวโพดทั้ง 2 ชนิดนี้ คือการทำให้เกิดคิเคอแฟลคชั่น จะมีประสิทธิภาพค่อนข้างต่ำ เมื่อทำการศึกษารูปแบบของการใช้กลีเซอรีนเริ่มต้น โดยที่ใช้ corn meal starch เข้มข้น 200 กรัมต่อลิตร ที่ผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์อะไมเลส ที่อุณหภูมิระหว่าง 90-95° ซ เป็นเวลา 1 ชั่วโมง ทำการทดลองเป็น 2 ชุด โดยแปรผันความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคสในระดับต่าง ๆ กัน และปรับค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เริ่มต้นเป็น 5.6 จากนั้นเติมกลีเซอรีนเริ่มต้น 2 แบบ

คือชุดที่ 1 เติมด้วยมวลเซลล์เข้มข้นขนาด 3 มิลลิลิตรต่อลิตร และชุดที่ 2 เติมในรูปของเหลวปริมาณร้อยละ 15 ทำการหมักที่อุณหภูมิ 32°C พบว่าการเติมกลีเซอรีนเริ่มต้นทั้ง 2 แบบจะมีประสิทธิภาพในการผลิตเอทานอลได้ใกล้เคียงกัน หรือมีค่าสมมูลของกลีเซอรีนเริ่มต้นเท่ากันคือ 0.5 กรัมต่อลิตร (โดยมวลน้ำหนักแห้ง) และเมื่อทำการศึกษาการหมักเอทานอลในถังปฏิกรณ์ชีวภาพที่มีขนาด 4,450 ลิตร จำนวน 24 ถังต่อเนื่องกัน โดยใช้วิธีการเติมเชื้ออย่างต่อเนื่องกัน ปริมาณร้อยละ 10-20 (โดยปริมาตร) จากถังที่ 1 จนกระทั่งถึงถังที่ 24 พบว่าประสิทธิภาพในการหมักเอทานอลของแต่ละถังมีค่าใกล้เคียงกัน และเมื่อขยายขนาดของการหมักในถังปฏิกรณ์ชีวภาพขนาด 64,723 ลิตร และใช้วิธีการเติมกลีเซอรีนแบบเดิมพบว่าประสิทธิภาพในการเปลี่ยนน้ำตาลกลูโคสเป็นเอทานอลจะมีค่าระหว่างร้อยละ 94-97 ของน้ำตาลกลูโคสเริ่มต้น

Millichip, Doelle (1989) ได้ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการหมักเพื่อผลิตเอทานอลโดยใช้แบคทีเรีย *Z. mobilis* UQM 2716 จาก dry-mill milo ที่ผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์อะไมเลส ที่อุณหภูมิ 90-95°C เป็นเวลานาน 1 ชั่วโมง และปรับค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เริ่มต้นให้มีค่าระหว่าง 6.5-7.0 ด้วย $\text{Ca}(\text{OH})_2$ เจือจางแบ่งเหลวที่ผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์ด้วย backset (thin stillage) และน้ำที่ได้จากกระบวนการผลิตให้มีองค์ประกอบที่เป็นของแข็งในระหว่างร้อยละ 18-24 (โดยปริมาตร) หรือใช้ backset เพียงอย่างเดียวประมาณร้อยละ 30 ของปริมาณแบ่งเหลวทั้งหมด จากนั้นนำไปผ่านเครื่องแลกเปลี่ยนความร้อน ก่อนที่จะนำไปใช้ในการหมักโดยแบคทีเรีย *Z. mobilis* UQM 2716 ในถังปฏิกรณ์ชีวภาพ ขนาด 13,247.50 ลิตร และ 586,000 ลิตร โดยใช้ปริมาณกลีเซอรีนเริ่มต้นระหว่างร้อยละ 10-20 (โดยปริมาตร) ที่อุณหภูมิระหว่าง 30-37°C พบว่าแบคทีเรีย *Z. mobilis* UQM 2716 สามารถที่จะผลิตเอทานอลได้มากถึงร้อยละ 0.3 ต่อชั่วโมง และได้เอทานอลที่มีความเข้มข้นเท่ากับร้อยละ 13 (โดยปริมาตร) ซึ่งใช้เวลาในการหมักน้อยกว่า 50 ชั่วโมง

Doelle, Doelle (1990) ได้ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการหมักเพื่อผลิตเอทานอลจากกากน้ำตาลอ้อย (sugar cane molasses) โดยใช้แบคทีเรีย *Z. mobilis* UQM 2716 พบว่าการหมักกากน้ำตาลที่มีความเข้มข้น 250 กรัมต่อลิตร (เจือจางให้มีค่าเท่ากับ 1 ต่อ 3) ของกากน้ำตาลที่มีความเข้มข้นของน้ำตาลทั้งหมดร้อยละ 35-42 (โดยน้ำหนักต่อปริมาตร) สามารถที่จะหมักน้ำตาลหมดภายใน 24 ชั่วโมง ทั้ง ๆ ที่มีเกลือค่อนข้างสูง ส่วนการหมักกากน้ำตาลที่มีความเข้มข้น 300 กรัมต่อลิตร ที่ได้จากกากน้ำตาลที่มีความเข้มข้นของน้ำตาลทั้งหมดร้อยละ 48-50 (โดยน้ำหนักต่อปริมาตร) พบว่าจะมีการสะสมของน้ำตาลฟรุคโตส และเมื่อทำการทดลองโดยการเติมน้ำตาลซูโครสลงในกากน้ำตาลเพื่อให้มีน้ำตาลซูโครสเข้มข้นเท่ากับร้อยละ 15 (โดยน้ำหนักต่อปริมาตร) พบว่าจะได้เอทานอลเกิดขึ้นร้อยละ 10 (โดยปริมาตร) ซึ่งประสิทธิภาพในการเปลี่ยนน้ำตาลซูโครสเป็นเอทานอลจะมีค่าสูงถึงร้อยละ 96 ของน้ำตาลซูโครสเริ่มต้น นอกจากนี้จากการทดลองยังพบว่ามีซอร์บิทอลเกิดขึ้นเพียงเล็กน้อย แต่จะมีความเข้มข้นเพิ่มเป็น 10 เท่าเมื่อเติมเอนไซม์อินเวอร์เทสในกากน้ำตาล

Park, Baratti (1991) ได้ศึกษาเปรียบเทียบการผลิตเอทานอลโดยแบคทีเรีย *Z. mobilis* SBE 15 ซึ่งเป็นสายพันธุ์กลายที่ทนต่อแรงดันออสโมซิส โดยใช้กากน้ำตาลบิท 4 ชนิดจากโรงงานผลิตน้ำตาล ซึ่งได้แก่ syrup (s) crystallizer effluent 1 (ce1) crystallizer effluent 2 (ce2) และ molasses (m) ซึ่งน้ำตาลซูโครสในแหล่งน้ำตาลบิททั้ง 4 ชนิดผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์อินูลินเนส เพื่อป้องกันการสร้างสารลิแวนซินในระหว่างการหมัก สำหรับการทดลองเพื่อหาแหล่งสารอาหารเสริมของกากน้ำตาลบิททั้ง 4 ชนิด พบว่าแบคทีเรีย *Z. mobilis* SBE 15 สามารถเจริญเติบโตและผลิตเอทานอลได้จากแหล่งน้ำตาล ce2 และ m ที่เติมเฉพาะ $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ หรือแหล่งน้ำตาล s

และ cel ที่เติมเฉพาะ $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ ซึ่งสามารถหลีกเลี่ยงการใช้ yeast extract ได้ นอกจากนี้ยังพบว่าการหมักเอทานอลจากแหล่งน้ำตาลบีททั้ง 4 ชนิดที่ใช้น้ำตาลเข้มข้นร้อยละ 20 (โดยน้ำหนักต่อปริมาตร) แบคทีเรีย *Z. mobilis* SBE 15 สามารถเปลี่ยนน้ำตาลได้อย่างสมบูรณ์ ซึ่งมีค่ามากกว่าร้อยละ 94.9 ของน้ำตาลเริ่มต้น และแบคทีเรีย *Z. mobilis* SBE 15 มีอัตราการเจริญเติบโตที่ดี (0.16 ต่อชั่วโมง) และผลิตเอทานอลได้มากกว่า 40 กรัมต่อลิตร อย่างไรก็ตามพบว่ามีซอร์บิทอลเกิดขึ้น ซึ่งทำให้การผลิตเอทานอลมีค่าลดลงในช่วงระหว่างร้อยละ 73-79 ของค่าที่ได้ตามทฤษฎี การศึกษาจนพบผลผลิตของแบคทีเรีย *Z. mobilis* SBE 15 พบว่าค่าออสโมลาลิตีของแหล่งน้ำตาลทั้ง 4 ชนิด เมื่อเรียงลำดับจากน้อยไปหามากมีค่าดังนี้ s cel ce2 และ m ตามลำดับ ซึ่งค่าออสโมลาลิตีจะมีผลยับยั้งการผลิตมวลเซลล์ของแบคทีเรีย *Z. mobilis* SBE 15 มากกว่า แต่จะไม่มีผลในการยับยั้งการผลิตเอทานอล ซึ่งจากการทดลองพบว่าแหล่งน้ำตาลบีททั้ง 4 ชนิดสามารถใช้เป็นแหล่งน้ำตาลในการหมักเพื่อผลิตเอทานอลจากแบคทีเรีย *Z. mobilis* SBE 15 ได้เมื่อเติมอาหารเสริมอย่างเหมาะสม

Park, Baratti (1992) ได้ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการหมักเพื่อผลิตเอทานอลจากกากน้ำตาลบีท โดยแบคทีเรีย *Z. mobilis* SBE 15 น้ำตาลซูโครสในกากน้ำตาลทำการย่อยด้วยเอนไซม์อินูลินเนส เพื่อป้องกันการเกิดสารลิแวน ทำการหมักโดยใช้ถังปฏิกรณ์ชีวภาพ 2 ถัง ที่มีปริมาตรน้ำหมักเท่ากับ 98 และ 360 มิลลิลิตร ตามลำดับ ในถังที่ 1 ใช้อาหารเลี้ยงเชื้อที่ประกอบด้วยกากน้ำตาลที่ผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์ (hydrolysed molasses) ความเข้มข้นร้อยละ 20 (โดยน้ำหนักต่อปริมาตร) หรือมีน้ำตาลเท่ากับ 98.2 กรัมต่อลิตร $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.5 กรัมต่อลิตร และ antifoam (rhodosil no. 426R) ร้อยละ 0.01 (โดยปริมาตร) สำหรับในถังที่ 2 ใช้อาหารเลี้ยงเชื้อที่ผ่านจากถังที่ 1 รวมกับกากน้ำตาลที่ผ่านการย่อยแล้วความเข้มข้นร้อยละ 50 (โดยน้ำหนักต่อปริมาตร) โดยไม่ต้องเติมสารอาหารเสริมใด ๆ ซึ่งจะได้ความเข้มข้นของน้ำตาลที่จะไหลเข้าสู่ถังที่ 2 เท่ากับ 245.5 กรัมต่อลิตร ควบคุมค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ของการหมักเท่ากับ 5.0 ด้วย 5 นอร์มัล KOH และที่อุณหภูมิ 30° ซ ความเร็วรอบของใบกวนทั้ง 2 ถังเท่ากับ 100 รอบต่อนาที จากการทดลองพบว่าเมื่อใช้เวลาในการเดินระบบ 18 วัน แบคทีเรีย *Z. mobilis* SBE 15 สามารถที่จะเปลี่ยนน้ำตาลได้ประมาณร้อยละ 97 ของน้ำตาลเริ่มต้นและได้เอทานอลเข้มข้นเท่ากับ 59.9 กรัมต่อลิตร คิดเป็นผลได้ของเอทานอลเท่ากับ 0.48 กรัมเอทานอลต่อกรัมน้ำตาลที่ถูกใช้ไป หรือคิดเป็นอัตราผลผลิตของเอทานอลเท่ากับ 3.0 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง โดยใช้อัตราการเจือจางเท่ากับ 0.049 ต่อชั่วโมง

Tripetchkul *et al.* (1992) ได้ศึกษาความเป็นไปได้ของการใช้ natural rubber waste มาเป็นแหล่งของสารอาหารเสริม สำหรับการหมักเพื่อผลิตเอทานอลจากแบคทีเรีย *Z. mobilis* NRRL-B-14023 ซึ่ง natural rubber serum powder (NRSP) จะนำมาใช้แทน yeast extract จากผลการทดลอง พบว่าทั้ง NRSP และ NRSP ที่ผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์โปรเนส (pronase) มีศักยภาพเพียงพอที่จะนำมาใช้แทน yeast extract ได้ ความเข้มข้นที่เหมาะสมของ NRSP ที่ผ่านการย่อย (NRSP hydrolysate) และสารไมเอกิ (mieki) ซึ่งเป็น soybean protein hydrolysate พบว่าจะมีค่าเท่ากับร้อยละ 0.3 และ 1.0 (โดยน้ำหนักต่อปริมาตร) ตามลำดับ ซึ่งความเข้มข้นดังกล่าวนี้จะทำให้แบคทีเรียมีการเจริญเติบโตและผลิตมวลเซลล์ได้มากกว่าที่ความเข้มข้นอื่น ๆ สำหรับการศึกษาจนพบผลผลิตของแบคทีเรีย *Z. mobilis* NRRL-B-14023 เมื่อเพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ 3 ชนิดคือ yeast extract medium (ที่เติมน้ำตาลกลูโคสร้อยละ 10 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร) NRSP-hydrolysate-mieki medium (ที่เติมน้ำตาลกลูโคสร้อยละ 10 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร) และ NRSP-hydrolysate-mieki medium (ที่เติมน้ำตาลกลูโคสร้อยละ 10 โดยน้ำหนักต่อปริมาตรที่ได้จากการย่อยแป้งสาลี) พบว่าแบคทีเรียจะเจริญเติบโตได้ในอาหารเลี้ยงเชื้อ

สูตร NRSP-hydrolysate-mieki medium (ที่เติมน้ำตาลกลูโคสร้อยละ 10 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร) และ NRSP-hydrolysate-mieki medium (ที่เติมน้ำตาลกลูโคสร้อยละ 10 โดยน้ำหนักต่อปริมาตรที่ได้จากการย่อยแป้งสาธู) โดยมีค่าอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะสูงสุดเท่ากับ 0.41 และ 0.43 ต่อชั่วโมง ตามลำดับ ซึ่งมีค่าต่ำกว่าอาหารเลี้ยงเชื้อสูตร yeast extract medium (ที่เติมน้ำตาลกลูโคสร้อยละ 10 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร) ที่มีค่าเท่ากับ 0.45 ต่อชั่วโมง แต่อาหารเลี้ยงเชื้อทั้ง 3 สูตรจะมีค่าผลได้ของเอทานอลใกล้เคียงกัน คือ 0.48 กรัมเอทานอลต่อกรัมน้ำตาลกลูโคสที่ถูกใช้ไป ซึ่งจากการศึกษาพบว่าอาหารเลี้ยงเชื้อสูตร NRSP-hydrolysate-mieki medium (ที่เติมน้ำตาลกลูโคสร้อยละ 10 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร) และ NRSP-hydrolysate-mieki medium (ที่เติมน้ำตาลกลูโคสร้อยละ 10 โดยน้ำหนักต่อปริมาตรที่ได้จากการย่อยแป้งสาธู) สามารถใช้แทนอาหารเลี้ยงเชื้อสูตร yeast extract medium (ที่เติมน้ำตาลกลูโคสร้อยละ 10 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร) ได้

Park, Baratti (1993) ได้ศึกษาเปรียบเทียบผลของเกลือโปแตสเซียมคลอไรด์ (KCl) ที่มีต่อสภาวะของการผลิตเอทานอลของแบคทีเรีย *Z. mobilis* SBE 15 และแบคทีเรีย *Z. mobilis* ZM4 (ATCC 31821) ในอาหารเลี้ยงเชื้อสูตรอุดมที่เติมเกลือโปแตสเซียมคลอไรด์ 6 ระดับคือร้อยละ 0 0.6 0.9 1.2 1.5 และ 1.8 (โดยน้ำหนักต่อปริมาตร) ตามลำดับ พบว่าแบคทีเรีย *Z. mobilis* ทั้ง 2 สายพันธุ์จะไม่สามารถเจริญเติบโตได้เมื่อเกลือโปแตสเซียมคลอไรด์มีความเข้มข้นเท่ากับร้อยละ 1.8 (โดยน้ำหนักต่อปริมาตร) นอกจากนี้ยังพบว่าค่าออกซิโมลาลิตี้ของอาหารเลี้ยงเชื้อที่เติมเกลือโปแตสเซียมคลอไรด์เท่ากับร้อยละ 0 0.6 0.9 1.2 และ 1.5 (โดยน้ำหนักต่อปริมาตร) จะมีค่าเท่ากับ 740 870 940 1,010 และ 1,080 มิลลิออสโมลาลิตี้ต่อกิโกรัม ตามลำดับ ซึ่งเมื่อค่าออกซิโมลาลิตี้มีค่าเพิ่มมากขึ้นจะทำให้อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะและมวลเซลล์มีค่าลดลงเช่นเดียวกันกับการใช้กากน้ำตาล นอกจากนี้ยังพบว่าเมื่อความเข้มข้นของเกลือโปแตสเซียมคลอไรด์มีค่าสูง ๆ จะทำให้เกิดการยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์แบคทีเรียแต่จะไม่ยับยั้งการผลิตเอทานอล อย่างไรก็ตามเมื่อทดลองใช้ cell-free extract และ washed cell ในการผลิตเอทานอล พบว่าการผลิตเอทานอลจะถูกยับยั้งเมื่อปริมาณเกลือโปแตสเซียมคลอไรด์มีความเข้มข้นมากขึ้น ซึ่งจากการทดลองพบว่าความเข้มข้นของเกลือโปแตสเซียมคลอไรด์ภายในเซลล์จะรักษาความเข้มข้นไว้ในระดับที่ต่ำกว่าภายนอกเซลล์โดยอาศัยกระบวนการแอคทีฟทรานสปอร์ต (active transport system)

Siva Kesava *et al.* (1995) ได้ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการหมักเพื่อผลิตเอทานอลโดยใช้แบคทีเรีย *Z. mobilis* ATCC 10988 ในอาหารเลี้ยงเชื้อสูตร cultivation medium ที่แปรผันความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคสเริ่มต้นเป็น 6 ระดับคือ 50 100 150 200 250 และ 300 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ ปรับค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เริ่มต้นให้อยู่ระหว่าง 6.2–6.5 ทำการหมักแบบกะ โดยใช้ปริมาณกลูโคสเริ่มต้นเท่ากับร้อยละ 15 (โดยปริมาตร) ที่อุณหภูมิ 30° ซ อัตราการเขย่า 160 รอบต่อนาที พบว่าที่ระดับความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคสเริ่มต้นระหว่าง 50 ถึง 150 กรัมต่อลิตร จะให้ประสิทธิภาพในการผลิตเอทานอลมีค่าสูงที่สุด โดยเฉพาะที่ความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคสเริ่มต้นเท่ากับ 150 กรัมต่อลิตร จะสามารถผลิตเอทานอลได้สูงถึง 70.4 กรัมต่อลิตร โดยใช้เวลาในการหมักนาน 35 ชั่วโมง นอกจากนี้ยังพบว่าเมื่อระดับความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคสเริ่มต้นมีค่าเพิ่มสูงขึ้นจะทำให้ช่วงระยะพักตัวยาวนานมากขึ้น และทำให้อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะมีค่าลดลง เพื่อลดระยะพักตัวให้สั้นลง จึงได้ทำการศึกษาปริมาณกลูโคสเริ่มต้นที่เหมาะสม โดยแปรผันปริมาณกลูโคสเริ่มต้นตั้งแต่ระดับร้อยละ 5 จนกระทั่งถึงร้อยละ 30 (โดยปริมาตร) พบว่าปริมาณกลูโคสเริ่มต้นเท่ากับร้อยละ 15 (โดยปริมาตร) สามารถผลิตเอทานอลได้สูงที่สุด และเพื่อเพิ่มศักยภาพในการผลิตเอทานอลและลดการยับยั้งการผลิตเอทานอลของแบคทีเรีย

เนื่องจากความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคสเริ่มต้นมีค่าเพิ่มสูงขึ้น โดยการใช้วิธีการเติมน้ำตาลกลูโคสแบบทีละครั้ง (step-feeding) พบว่าการเติมน้ำตาลกลูโคสด้วยวิธีนี้ที่ระดับความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคสทั้งหมดเท่ากับ 200 กรัมต่อลิตร จะสามารถผลิตเอทานอลได้สูงที่สุด อย่างไรก็ตามจากการทดลอง พบว่าอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะจะมีค่าลดลงเมื่อจำนวนครั้งของการเติมมีค่าเพิ่มมากขึ้น นอกจากนี้ยังพบว่าความเข้มข้นของ yeast extract และ bacto peptone ที่เหมาะสมจะมีค่าประมาณ 6 กรัมต่อลิตร

Abate *et al.* (1996) ได้ศึกษาเปรียบเทียบการหมักเพื่อผลิตเอทานอลโดยใช้เชื้อบริสุทธิ์และเชื้อผสมระหว่างเชื้อยีสต์ *Saccharomyces* sp. และแบคทีเรีย *Z. mobilis* ในอาหารเลี้ยงเชื้อสูตร fermentation media ที่ประกอบด้วย (กรัมต่อลิตร) sucrose 200 yeast extract 10 peptone 5 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 2 KH_2PO_4 1 $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 1 โดยเติมกล้าเชื้อเริ่มต้นดังนี้ 1) เติมเฉพาะกล้าเชื้อแบคทีเรีย *Z. mobilis* จำนวน 20 มิลลิลิตร 2) เติมเฉพาะกล้าเชื้อยีสต์ *Saccharomyces* sp. จำนวน 20 มิลลิลิตร 3) เติมกล้าเชื้อของแต่ละชนิดอย่างละ 10 มิลลิลิตร 4) เติมกล้าเชื้อยีสต์ *Saccharomyces* sp. ก่อนจำนวน 10 มิลลิลิตรจากนั้นอีก 8 ชั่วโมงต่อมาให้เติมกล้าเชื้อของแบคทีเรีย *Z. mobilis* อีก 10 มิลลิลิตรและ 5) เติมกล้าเชื้อยีสต์ *Saccharomyces* sp. ก่อนจำนวน 10 มิลลิลิตรจากนั้นอีก 14 ชั่วโมงต่อมาให้เติมกล้าเชื้อของแบคทีเรีย *Z. mobilis* อีก 10 มิลลิลิตร ทำการหมักที่อุณหภูมิ 30°C โดยไม่ต้องเขย่า พบว่าเมื่อทำการหมักเฉพาะแบคทีเรีย *Z. mobilis* เพียงชนิดเดียว สามารถผลิตเอทานอลได้สูงที่สุด โดยใช้ระยะเวลาหมักนานกว่า 60 ชั่วโมง แต่ผลได้ของเอทานอล (0.47 กรัมเอทานอลต่อกรัมน้ำตาลซูโครสที่ถูกใช้ไป) จะมีค่าต่ำกว่าเชื้อยีสต์ *Saccharomyces* sp. (0.50 กรัมเอทานอลต่อกรัมน้ำตาลซูโครสที่ถูกใช้ไป) อย่างไรก็ตามพบว่าเชื้อยีสต์ *Saccharomyces* sp. จะใช้เวลาในการหมักนานกว่าแบคทีเรีย *Z. mobilis* ถึง 11 ชั่วโมง หรือผลิตเอทานอลได้สูงกว่าแบคทีเรีย *Z. mobilis* ประมาณร้อยละ 6 ของความเข้มข้นของเอทานอลที่ผลิตได้ แต่เชื้อยีสต์ *Saccharomyces* sp. จะให้มวลเซลล์สูงกว่าแบคทีเรีย *Z. mobilis* มากถึงร้อยละ 50 ของมวลเซลล์ที่ผลิตได้ อย่างไรก็ตามอัตราจำเพาะของการผลิตเอทานอลของแบคทีเรีย *Z. mobilis* จะมีค่าสูงกว่ามากถึงร้อยละ 25 สำหรับการเพาะเลี้ยงแบบผสมกันระหว่างจุลินทรีย์ทั้ง 2 ชนิด พบว่าผลได้ของเอทานอลจะมีค่าเท่ากับ 0.50 กรัมเอทานอลต่อกรัมน้ำตาลซูโครสที่ถูกใช้ไป ซึ่งใกล้เคียงกับการหมักโดยใช้เชื้อเดี่ยว ๆ นอกจากนี้ยังพบว่าไม่มีสารลิแวนเกิดขึ้น

Bravo *et al.* (2000) ได้ศึกษาผลของรูปแบบสำหรับการใช้ในการเติมน้ำตาลกลูโคสในระหว่างการหมัก ที่มีต่อมวลเซลล์สุดท้ายและความเข้มข้นของเอทานอล โดยใช้แบคทีเรีย *Z. mobilis* CP4 ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ประกอบด้วย (กรัมต่อลิตร) glucose 100 yeast extract 10 KH_2PO_4 1 $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.5 และ $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 1 โดยใช้ปริมาตรอาหารเลี้ยงเชื้อเริ่มต้นเท่ากับ 500 มิลลิลิตร ทำการหมักในถังปฏิกรณ์ชีวภาพ ขนาด 2 ลิตร ที่อุณหภูมิ 30°C ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เท่ากับ 6 ความเร็วรอบของใบกวน 150 รอบต่อนาที การเติมอาหารเลี้ยงเชื้อมี 2 แบบคือ 1) constant feeding rate โดยแปรผันอัตราการไหลของอาหารเลี้ยงเชื้อ 4 ระดับคือ 0.11 0.22 0.43 และ 0.55 ลิตรต่อชั่วโมง ตามลำดับและ 2) exponentially varied feeding rate โดยใช้อัตราการไหลของอาหารเลี้ยงเชื้อเริ่มต้นเท่ากับ 0.015 ลิตรต่อชั่วโมง และทำการเพิ่มอัตราการไหลเป็น 2 เท่าเป็น 3 ระดับคือ 0.5 1.0 และ 1.5 ชั่วโมง ตามลำดับ จากการทดลองพบว่าผลได้ของมวลเซลล์สูงสุดที่ได้จะมีค่าเท่ากับ 0.018 กรัมมวลเซลล์ต่อกรัมน้ำตาลกลูโคสที่ถูกใช้ไป และผลได้ของเอทานอลสูงสุดมีค่าเท่ากับ 0.188 กรัมเอทานอลต่อกรัมน้ำตาลซูโครสที่ถูกใช้ไป เมื่อใช้อัตราการไหลของอาหารเลี้ยงเชื้อที่ระดับแตกต่างกัน อย่างไรก็ตามพบว่าผลได้ของมวลเซลล์และเอทานอลจะมีค่าลดลงเท่ากับ 0.0102 กรัมมวลเซลล์ต่อกรัมน้ำตาลกลูโคสที่ถูกใช้ไป และ 0.085 กรัมเอทานอลต่อ

กรัมน้ำตาลซูโครสที่ถูกใช้ไป ตามลำดับ เมื่อเกิดการสะสมของน้ำตาลกลูโคสมากเกินไป 60 กรัมต่อลิตรในทางตรงกันข้ามพบว่าความเข้มข้นของมวลเซลล์และเอทานอลจะมีค่าสูงที่สุดเท่ากับ 5 และ 39 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ เมื่อใช้อัตราการไหลของอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีน้ำตาลกลูโคสเข้มข้นเท่ากับ 220 กรัมต่อลิตร แบบ constant feeding rate และ exponentially varied feeding rate

2.8 คุณสมบัติที่เหมาะสมของแบคทีเรีย *Z. mobilis* ต่อการผลิตเอทานอล

อรพิน ภูมิภมร (2525) ได้รวบรวมข้อได้เปรียบของการใช้แบคทีเรีย *Zymomonas* จากนักวิทยาศาสตร์หลาย ๆ ท่าน ซึ่งได้ทดลองใช้แบคทีเรีย *Zymomonas* sp. ในการผลิตแอลกอฮอล์ทั้งด้วยวิธีการผลิตแบบกะ และแบบต่อเนื่องสามารถสรุปได้ดังนี้

1. *Zymomonas* สามารถที่จะผลิตแอลกอฮอล์ได้สูงกว่ายีสต์ โดยคิดเป็นปริมาณที่ผลิตได้หนึ่งหน่วยเวลา แบคทีเรียชนิดนี้สามารถใช้กลูโคสได้มาก และปริมาณเซลล์ที่สร้างขึ้นน้อยกว่ายีสต์ ดังนั้น น้ำตาลที่ใช้จึงนำไปแปรเปลี่ยนเป็นแอลกอฮอล์ได้สูงกว่ายีสต์
2. *Zymomonas* ใช้น้ำตาลกลูโคสและผลิตแอลกอฮอล์โดยผ่าน Entner-Doudoroff pathway ทำให้เกิด ATP 1 โมลต่อน้ำตาลกลูโคส 1 โมล ในขณะที่ยีสต์จะใช้น้ำตาลผ่าน Embden-Meyerhof-Parnas pathway และได้ ATP 2 โมลต่อน้ำตาลกลูโคส 1 โมล
3. *Zymomonas* เจริญในสภาวะที่ปราศจากออกซิเจนได้ดีกว่ายีสต์จึงไม่ต้องการระบบควบคุมออกซิเจนเหมือนที่ยีสต์ต้องการเพื่อใช้รักษาปริมาณเซลล์ให้ได้มากเพียงพอสำหรับการผลิตแอลกอฮอล์
4. *Zymomonas* บางสายพันธุ์สามารถทนต่อแอลกอฮอล์ได้สูงถึงร้อยละ 10-16
5. สามารถที่จะนำเอาเทคนิคทางด้านพันธุกรรมของแบคทีเรีย มาประยุกต์ใช้กับแบคทีเรีย *Zymomonas* เพื่อที่จะได้สายพันธุ์กลายที่มีประสิทธิภาพในการผลิตแอลกอฮอล์ได้สูง หรือทนต่อแอลกอฮอล์ที่มีความเข้มข้นสูงได้ เช่น การใช้วิธี plasmid transfer technique
6. การศึกษาการใช้น้ำตาลกลูโคส ฟรุคโตส และซูโครส ของแบคทีเรีย *Zymomonas* ทำให้ได้ข้อมูลที่จะนำมาใช้สำหรับการผลิตแอลกอฮอล์ในขั้นอุตสาหกรรม

ดังนั้นจึงมีความเป็นไปได้ที่จะใช้น้ำเชื่อมที่ได้จากการย่อยกากมันสำปะหลังมาใช้ในการหมักเพื่อผลิตเอทานอลโดยแบคทีเรีย *Z. mobilis* ซึ่งงานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการหมักเพื่อผลิตเอทานอลจากน้ำเชื่อมที่ได้จากการย่อยกากมันสำปะหลังในระดับขวดเขย่า ขนาด 500 มิลลิลิตรและถึงปฏิกรณ์ชีวภาพแบบถังกวน ขนาด 5 ลิตร

บทที่ 3

วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีการวิจัย

3.1 เชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ในการทดลอง

แบคทีเรีย *Zymomonas mobilis* TISTR 548 และ *Zymomonas mobilis* TISTR 1042 จากสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย (วท.)

3.2 อาหารเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์

3.2.1 อาหารเลี้ยงเชื้อสูตร cultivation medium (Siva Kesava *et al.*, 1995)

อาหารเลี้ยงเชื้อสูตร cultivation medium ประกอบด้วยองค์ประกอบดังนี้

น้ำตาลกลูโคส	50	กรัมต่อลิตร
yeast extract	5	กรัมต่อลิตร
peptone	5	กรัมต่อลิตร

การเตรียมโดยใช้น้ำตาลกลูโคสความเข้มข้น 50 กรัม เติม yeast extract และ peptone อย่างละ 5 กรัมในน้ำกลั่นปริมาตร 1 ลิตร ปรับค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ระหว่าง 6.2-6.5 ด้วย 1 โมลาร์ H_2SO_4 และ 1 โมลาร์ NaOH ก่อนที่จะนำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยความดันไอน้ำที่ระดับอุณหภูมิ $121^\circ C$ เป็นเวลา 15 นาที

3.2.2 อาหารเลี้ยงเชื้อสูตรอุดม (ดัดแปลงจากวิธีของ Siva Kesava *et al.*, 1995)

อาหารเลี้ยงเชื้อสูตรอุดม ประกอบด้วยองค์ประกอบดังนี้

น้ำเชื่อม	1	ลิตร
yeast extract	5	กรัม
peptone	5	กรัม

การเตรียมโดยใช้น้ำเชื่อมปริมาตร 1 ลิตร เติม yeast extract และ peptone อย่างละ 5 กรัมในน้ำเชื่อมปริมาตร 1 ลิตร ปรับค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ระหว่าง 6.2-6.5 ด้วย 1 โมลาร์ H_2SO_4 และ 1 โมลาร์ NaOH ก่อนที่จะนำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยความดันไอน้ำที่ระดับอุณหภูมิ $121^\circ C$ เป็นเวลา 15 นาที

3.2.3 อาหารเลี้ยงเชื้อสูตรปรับค่า

อาหารเลี้ยงเชื้อสูตรปรับค่า ประกอบด้วยองค์ประกอบดังนี้

น้ำเชื่อม	1	ลิตร
$(NH_4)_2SO_4$ หรือ NH_4Cl	1	กรัมต่อลิตร

การเตรียมโดยใช้น้ำเชื่อมปริมาตร 1 ลิตร เติม $(NH_4)_2SO_4$ หรือ NH_4Cl อย่างละ 1 กรัม ปรับค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ระหว่าง 6.2-6.5 ด้วย 1 โมลาร์ H_2SO_4 และ 1 โมลาร์ NaOH ก่อนที่จะนำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยความดันไอน้ำที่ระดับอุณหภูมิ $121^\circ C$ เป็นเวลา 15 นาที

3.2.4 อาหารเลี้ยงเชื้อสูตร Zymomonas medium

อาหารเลี้ยงเชื้อสูตร zymomonas medium ประกอบด้วย

glucose	20	กรัม
yeast extract	10	กรัม
bacto peptone	10	กรัม

การเตรียมโดยการละลายส่วนผสมรวมกันในน้ำกลั่นให้มีปริมาตรครบ 1 ลิตร ส่วนอาหารแข็งให้เติม agar 15 กรัม ก่อนที่จะนำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยความดันไอน้ำที่ระดับอุณหภูมิ 121° ซ เป็นเวลา 15 นาที

3.2.5 อาหารเลี้ยงเชื้อสูตร yeast extract-peptone glucose broth (YPG)

อาหารเลี้ยงเชื้อสูตร yeast extract – peptone glucose broth ประกอบด้วย

glucose	50	กรัมต่อลิตร
yeast extract	10	กรัมต่อลิตร
peptone	10	กรัมต่อลิตร

การเตรียมโดยละลายส่วนผสมรวมกันในน้ำกลั่นให้มีปริมาตรครบ 1 ลิตร ก่อนที่จะนำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยความดันไอน้ำที่ระดับอุณหภูมิ 121° ซ เป็นเวลา 15 นาที อาหารแข็งให้เติม agar 20 กรัม

3.3 เคมีภัณฑ์ที่ใช้ในการทดลอง

ชื่อสารเคมี (ชื่อทางการค้า)	บริษัทผู้ผลิต
1. กรดซัลฟิวริก (เกรดวิเคราะห์)	MERK, Germany
2. กรดไดไนโตรซาลิไซลิก	Sigma. Chemical Company, USA
3. กลูโคส (เกรดวิเคราะห์)	Sigma. Chemical Company, USA
4. โซเดียมไฮดรอกไซด์	MERK, Germany
5. ซูโครส (เกรดวิเคราะห์)	Sigma. Chemical Company, USA
6. ฟรุคโตส (เกรดวิเคราะห์)	Sigma. Chemical Company, USA
7. โพแทสเซียมโซเดียมทาร์เตต	MERK, Germany
8. แอมโมเนียมซัลเฟต	CARLO ERBA REAGENT, ITALY
9. แอมโมเนียมคลอไรด์	CARLO ERBA REAGENT, ITALY
10.เอทานอล (เกรดสำหรับ GC หรือ HPLC)	MERK, Germany

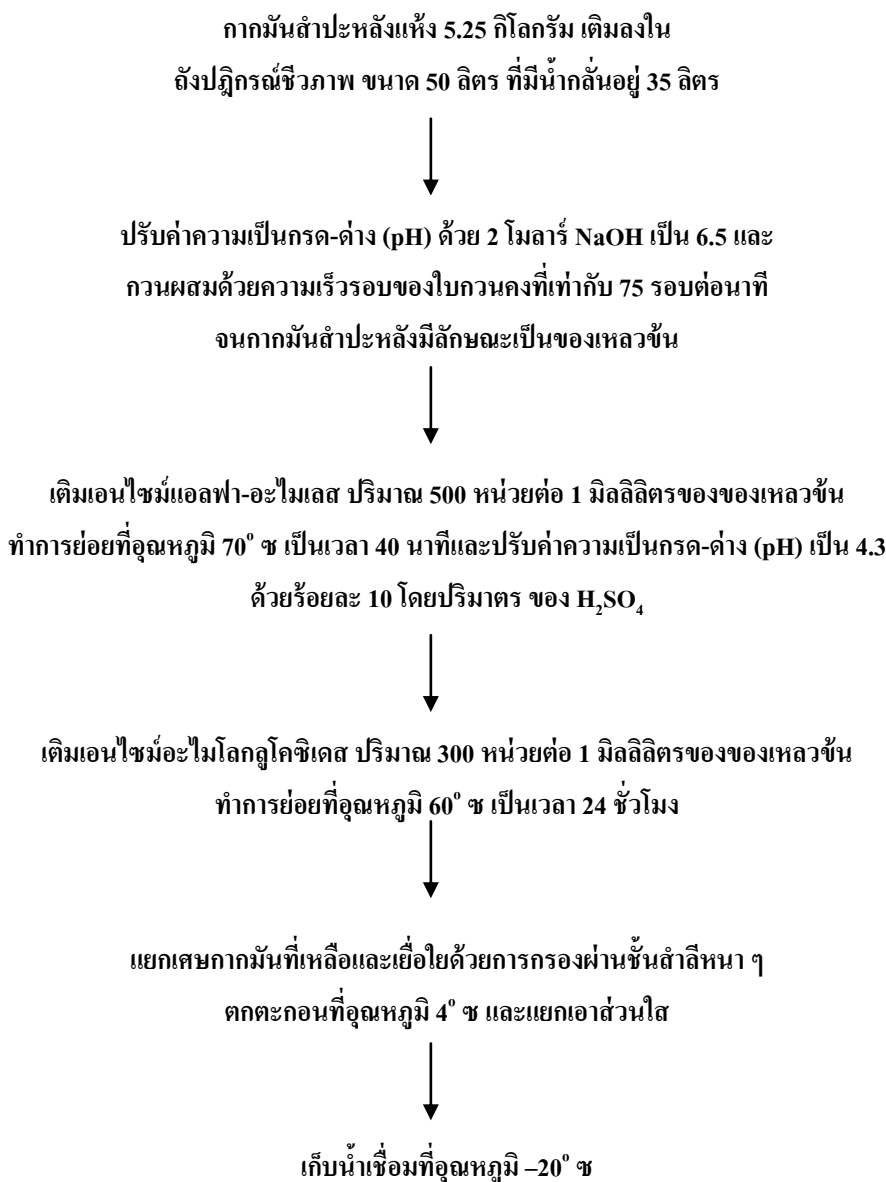
3.4 อุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง

ชื่อเครื่องมือ	รุ่น	บริษัทผู้ผลิต
1.เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง (Spectrophotometer)	UV-1601	Shimadzu Corporation, Japan.
2.เครื่องวัดค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) (Digital pH Meter)	PHM 210	Analytical HIRAYAMA, France.
3.เครื่องนึ่งฆ่าเชื้อด้วยความดันไอน้ำ (Autoclave)	Hiclave HV-85	Manufacturing Corporation, Japan.
4.ถังปฏิกรณ์ชีวภาพ ขนาด 5 ลิตร (Fermenter)	Biostat-B	B. Braun Biotech International, Germany.
5.เครื่องระเหยสุญญากาศแบบหมุน (Rotary vacuum evaporator)	Heidolph vv 2000	Buchii West Germany.
6.เครื่องผสมสารละลาย (Vortex Mixer)	G560E	Scientific Industries Inc, USA.
7.เครื่องปั่นเหวี่ยงชนิดควบคุมความเร็ว (Centrifuge)	SorvallRC-	Dupont, USA.
8.เครื่องชั่งแบบละเอียด (Electronic Balance)	26-Plus PR 503	Mettler-Toled, Thailand.
9.ตู้บ่มเพาะเชื้อแบบเขย่า (Incubator Shaker)	G-27	New Braun Swicth Scientific Edison, USA.
10.ตู้ถ่ายเชื้อ (Laminar Air Flow Biohazard Carbinet)	Europeene, R.D	Flufrance, France.
11.เครื่องแก๊สโครมาโตกราฟี (Gas chromatography)	GC 14B	Shimadzu Corporation, Japan.
12. เครื่องปั่นเหวี่ยงชนิดควบคุมความเร็ว (Microcentrifuge)	SIGMA 1 K 15	SIGMA Laboratory Centrifuge, USA.

3.5 วิธีการวิจัย

3.5.1 การเตรียมน้ำเชื่อม

น้ำเชื่อมที่ได้จากการย่อยกากมันสำปะหลังด้วยเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส และเอนไซม์อะไมโลกลูโคซิเดส คัดแปลงวิธีการผลิตจาก จีวรธรณ อภิรักษ์กร (2540) และลิจิต ศิริสันติเมธาคม และคณะ (2543) ดังแสดงในภาพที่ 5 และภาพที่ 6 ประสิทธิภาพของการผลิตน้ำเชื่อมได้แสดงไว้ในภาคผนวก ง



ภาพที่ 4 แผนผังแสดงขั้นตอนการผลิตน้ำเชื่อมจากการย่อยกากมันสำปะหลังด้วยเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส และอะไมโลกลูโคซิเดส คัดแปลงวิธีการผลิตจาก จีวรธรณ อภิรักษ์กร (2540) และลิจิต ศิริสันติเมธาคม และคณะ (2543)

3.5.2 การศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการหมักเพื่อผลิตเอทานอลจากน้ำเชื่อมที่ได้จากการย่อยกากมันลำปะหลังในอาหารเลี้ยงเชื้อสูตรอุดม คัดแปลงสูตรจากวิธีของ Siva Kesava *et al.* (1995) ในระดับขวดเย้าขนาด 500 มิลลิลิตร ซึ่งมีขั้นตอนและวิธีการทดลองดังนี้

3.5.2.1 การเตรียมกล้าเชื้อเริ่มต้น

นำเชื้อแบคทีเรีย *Z. mobilis* ทั้ง 2 สายพันธุ์จาก stock culture จำนวน 1 หลูบเต็มถ่ายลงในอาหารเลี้ยงเชื้อสูตร yeast extract-peptone glucose (YPG) ปริมาตร 10 มิลลิลิตร ที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อด้วยความดันไอน้ำ (autoclave) ที่อุณหภูมิ 121° ซ เป็นเวลา 15 นาที จากนั้นนำไปบ่มเพาะเชื้อในตู้บ่มแบบควบคุมอุณหภูมิ (incubator) ที่อุณหภูมิ 30 ° ซ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง นำเชื้อแบคทีเรียที่ได้ไปเจือเชื้อลงในอาหารเลี้ยงเชื้อสูตร zymomonas medium ที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว ทำการบ่มเพาะเชื้อที่สภาวะเดิมเป็นเวลา 72 ชั่วโมงจนได้โคโลนีเดี่ยว ๆ จากนั้นนำโคโลนีเดี่ยว ๆ จำนวน 1 หลูบเต็มถ่ายลงในอาหารเลี้ยงเชื้อสูตร yeast extract-peptone glucose (YPG) ที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อแล้วปริมาตร 10 มิลลิลิตร ทำการบ่มเพาะเชื้อที่สภาวะเดิม จากนั้นทำการขยายขนาดของกล้าเชื้อเริ่มต้นจากการเตรียมข้างต้นจำนวน 1 มิลลิลิตร ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อสูตรเดิมที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว ปริมาตร 100 มิลลิลิตร นำไปบ่มที่สภาวะเดิม กล้าเชื้อเริ่มต้นให้มีค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น (A_{550}) ที่ 1.500

3.5.2.2 การศึกษาเปรียบเทียบแบคทีเรีย *Z. mobilis*

นำอาหารเลี้ยงเชื้อสูตร cultivation medium (Siva Kesava *et al.*, 1995) ที่แปรผันความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคสเริ่มต้นที่ต้องการศึกษา 4 ระดับคือ 50 100 150 และ 200 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ ปริมาตร 300 มิลลิลิตร ใส่ลงในขวดรูปชมพูนิตพิเศษ (ภาพที่ 7) ขนาด 500 มิลลิลิตร ให้ทำตัวอย่างละ 2 ข้างรวมเป็นตัวอย่างทั้งหมดเท่ากับ 8 ตัวอย่าง จากนั้นปรับค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เริ่มต้นระหว่าง 6.2-6.5 ด้วย 1 โมลาร์ H_2SO_4 และ 1 โมลาร์ NaOH ปิดด้วยจุกสำลี และปิดทับด้วยอะลูมิเนียมฟอล์ย นำไปนึ่งในเครื่องนึ่งฆ่าเชื้อด้วยความดันไอน้ำที่อุณหภูมิ 121° ซ เป็นเวลา 15 นาที ทั้งให้เย็นในตู้ถ่ายเชื้อ จากนั้นเติมกล้าเชื้อเริ่มต้นร้อยละ 15 (โดยปริมาตร) (จากวิธีของ Siva Kesava *et al.*, 1995) ปิดขวดด้วย air lock ที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อและเติมน้ำกลั่น นำขวดหมักที่ได้ไปบ่มเพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 30° ซ โดยไม่ต้องเขย่า ทำการเก็บตัวอย่างจากขวดหมักที่เวลา 0 4 8 12 16 20 24 28 32 36 40 44 และ 48 ชั่วโมง ตามลำดับ นำตัวอย่างที่ได้ไปวิเคราะห์หา ความเข้มข้นของน้ำตาลรีดิวซ์ ความเข้มข้นของมวลเซลล์ และความเข้มข้นของเอทานอล

3.5.2.3 การศึกษาค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เริ่มต้นที่เหมาะสมที่มีน้ำตาลรีดิวซ์เริ่มต้นเท่ากับ 50 กรัมต่อลิตร และอัตราการเขย่า 0 รอบต่อนาที

นำอาหารเลี้ยงเชื้อสูตรอุดม ที่ปรับความเข้มข้นของน้ำตาลรีดิวซ์เท่ากับ 50 กรัมต่อลิตร ปริมาตร 300 มิลลิลิตร ใส่ลงในขวดรูปชมพูนิตพิเศษ ขนาด 500 มิลลิลิตร จากนั้นแปรผันค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เริ่มต้นเป็น 4 ระดับคือ 5.5 6.0 6.5 และ 7.0 ตามลำดับ ด้วย 1 โมลาร์ H_2SO_4 และ 1 โมลาร์ NaOH ให้ทำตัวอย่างละ 2 ข้างรวมเป็นตัวอย่างทั้งหมดเท่ากับ 8 ตัวอย่าง ปิดด้วยจุกสำลีและปิดทับด้วยอะลูมิเนียมฟอล์ย นำไปนึ่งในเครื่องนึ่งฆ่าเชื้อด้วยความดันไอน้ำที่อุณหภูมิ 121° ซ เป็นเวลา 15 นาที ทั้งให้เย็นในตู้ถ่ายเชื้อ จากนั้นทำการเติมกล้าเชื้อเริ่มต้นร้อยละ 15 (โดยปริมาตร) (จากวิธีของ Siva Kesava *et al.*, 1995) ปิดขวดด้วย air lock ที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อและเติมน้ำกลั่น นำขวดหมักที่ได้ไปบ่มที่อุณหภูมิ 30° ซ โดยไม่ต้องเขย่า เก็บตัวอย่างจากขวดหมักที่เวลา 0

4 8 12 16 20 และ 24 ชั่วโมง ตามลำดับ นำตัวอย่างที่ได้ไปวิเคราะห์หา ความเข้มข้นของน้ำตาลรีดิวซ์ ความเข้มข้นของมวลเซลล์ และความเข้มข้นของเอทานอล

3.5.2.4 การศึกษาค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เริ่มต้นที่เหมาะสมที่มีน้ำตาลรีดิวซ์เริ่มต้นเท่ากับ 50 กรัมต่อลิตร และอัตราการเขย่า 100 รอบต่อนาที

นำอาหารเลี้ยงเชื้อสูตรอุดม ที่ปรับความเข้มข้นของน้ำตาลรีดิวซ์เท่ากับ 50 กรัมต่อลิตร ปริมาตร 300 มิลลิลิตร ใส่ลงในขวดรูปชมพู่ชนิดพิเศษ ขนาด 500 มิลลิลิตร จากนั้นแปรผันค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เริ่มต้นเป็น 4 ระดับคือ 5.5 6.0 6.5 และ 7.0 ตามลำดับ ด้วย 1 โมลาร์ H_2SO_4 และ 1 โมลาร์ NaOH ให้ทำตัวอย่างละ 2 ข้างรวมเป็นตัวอย่างทั้งหมดเท่ากับ 8 ตัวอย่าง ปิดด้วยจุกสำลีและปิดทับด้วยอะลูมิเนียมฟอยล์ นำไปนึ่งในเครื่องนึ่งฆ่าเชื้อด้วยความดันไอน้ำที่อุณหภูมิ $121^{\circ}C$ เป็นเวลา 15 นาที ทิ้งให้เย็นในตู้ถ่ายเชื้อ จากนั้นทำการเติมกลีเซอรอลเริ่มต้นร้อยละ 15 (โดยปริมาตร) ปิดขวดด้วย air lock ที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อและเติมน้ำกลั่น นำขวดหมักที่ได้ไปบ่มที่อุณหภูมิ $30^{\circ}C$ ที่อัตราการเขย่า 100 รอบต่อนาที เก็บตัวอย่างจากขวดหมักที่เวลา 0 4 8 12 16 20 และ 24 ชั่วโมง ตามลำดับ นำตัวอย่างที่ได้ไปวิเคราะห์หา ความเข้มข้นของน้ำตาลรีดิวซ์ ความเข้มข้นของมวลเซลล์ และความเข้มข้นของเอทานอล

3.5.2.5 การศึกษาค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เริ่มต้นที่เหมาะสมที่มีน้ำตาลรีดิวซ์เริ่มต้นเท่ากับ 50 กรัมต่อลิตร และอัตราการเขย่า 200 รอบต่อนาที

นำอาหารเลี้ยงเชื้อสูตรอุดม ที่ปรับความเข้มข้นของน้ำตาลรีดิวซ์เท่ากับ 50 กรัมต่อลิตร ปริมาตร 300 มิลลิลิตร ใส่ลงในขวดรูปชมพู่ชนิดพิเศษ ขนาด 500 มิลลิลิตร จากนั้นแปรผันค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เริ่มต้นเป็น 4 ระดับคือ 5.5 6.0 6.5 และ 7.0 ตามลำดับ ด้วย 1 โมลาร์ H_2SO_4 และ 1 โมลาร์ NaOH ให้ทำตัวอย่างละ 2 ข้างรวมเป็นตัวอย่างทั้งหมดเท่ากับ 8 ตัวอย่าง ปิดด้วยจุกสำลีและปิดทับด้วยอะลูมิเนียมฟอยล์ นำไปนึ่งในเครื่องนึ่งฆ่าเชื้อด้วยความดันไอน้ำที่อุณหภูมิ $121^{\circ}C$ เป็นเวลา 15 นาที ทิ้งให้เย็นในตู้ถ่ายเชื้อ จากนั้นทำการเติมกลีเซอรอลเริ่มต้นร้อยละ 15 (โดยปริมาตร) ปิดขวดด้วย air lock ที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อและเติมน้ำกลั่น นำขวดหมักที่ได้ไปบ่มที่อุณหภูมิ $30^{\circ}C$ ที่อัตราการเขย่า 200 รอบต่อนาที เก็บตัวอย่างจากขวดหมักที่เวลา 0 4 8 12 16 20 และ 24 ชั่วโมง ตามลำดับ นำตัวอย่างที่ได้ไปวิเคราะห์หา ความเข้มข้นของน้ำตาลรีดิวซ์ ความเข้มข้นของมวลเซลล์ และความเข้มข้นของเอทานอล

3.5.2.6 การศึกษาค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เริ่มต้นที่เหมาะสมที่มีน้ำตาลรีดิวซ์เริ่มต้นเท่ากับ 100 กรัมต่อลิตร และอัตราการเขย่า 0 รอบต่อนาที

นำอาหารเลี้ยงเชื้อสูตรอุดม ที่ปรับความเข้มข้นของน้ำตาลรีดิวซ์เท่ากับ 100 กรัมต่อลิตร ปริมาตร 300 มิลลิลิตร ใส่ลงในขวดรูปชมพู่ชนิดพิเศษ ขนาด 500 มิลลิลิตร จากนั้นแปรผันค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เริ่มต้นเป็น 4 ระดับคือ 5.5 6.0 6.5 และ 7.0 ตามลำดับ ด้วย 1 โมลาร์ H_2SO_4 และ 1 โมลาร์ NaOH ให้ทำตัวอย่างละ 2 ข้างรวมเป็นตัวอย่างทั้งหมดเท่ากับ 8 ตัวอย่าง ปิดด้วยจุกสำลีและปิดทับด้วยอะลูมิเนียมฟอยล์ นำไปนึ่งในเครื่องนึ่งฆ่าเชื้อด้วยความดันไอน้ำที่อุณหภูมิ $121^{\circ}C$ เป็นเวลา 15 นาที ทิ้งให้เย็นในตู้ถ่ายเชื้อ จากนั้นทำการเติมกลีเซอรอลเริ่มต้นร้อยละ 15 (โดยปริมาตร) ปิดขวดด้วย air lock ที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อและเติมน้ำกลั่น นำขวดหมักที่ได้ไปบ่มที่อุณหภูมิ $30^{\circ}C$ โดยไม่ต้องเขย่า เก็บตัวอย่างจากขวดหมักที่เวลา 0 4 8 12 16 20 และ 24 ชั่วโมง

ตามลำดับ นำตัวอย่างที่ได้ไปวิเคราะห์หา ความเข้มข้นของน้ำตาลรีดิวซ์ ความเข้มข้นของมวลเซลล์ และความเข้มข้นของเอทานอล

3.5.2.7 การศึกษาค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เริ่มต้นที่เหมาะสมที่มีน้ำตาลรีดิวซ์เริ่มต้นเท่ากับ 100 กรัมต่อลิตร และอัตราการเขย่า 100 รอบต่อนาที

นำอาหารเลี้ยงเชื้อสูตรอุดม ที่ปรับความเข้มข้นของน้ำตาลรีดิวซ์เท่ากับ 100 กรัมต่อลิตร ปริมาตร 300 มิลลิลิตร ใส่ลงในขวดรูปชมพูนิกพิเศษ ขนาด 500 มิลลิลิตร จากนั้นแปรผันค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เริ่มต้นเป็น 4 ระดับคือ 5.5 6.0 6.5 และ 7.0 ตามลำดับ ด้วย 1 โมลาร์ H_2SO_4 และ 1 โมลาร์ NaOH ให้ทำตัวอย่างละ 2 ซ้ำรวมเป็นตัวอย่างทั้งหมดเท่ากับ 8 ตัวอย่าง ปิดด้วยจุกสำลีและปิดทับด้วยอะลูมิเนียมฟอล์ย นำไปนึ่งในเครื่องนึ่งฆ่าเชื้อด้วยความดันไอน้ำที่อุณหภูมิ $121^{\circ}C$ เป็นเวลา 15 นาที ทิ้งให้เย็นในตู้ถ่ายเชื้อ จากนั้นทำการเติมน้ำกลั่นเพื่อเริ่มต้นร้อยละ 15 (โดยปริมาตร) ปิดขวดด้วย air lock ที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อและเติมน้ำกลั่น นำขวดหมักที่ได้ไปบ่มที่อุณหภูมิ $30^{\circ}C$ ที่อัตราการเขย่า 100 รอบต่อนาที เก็บตัวอย่างจากขวดหมักที่เวลา 0 4 8 12 16 20 และ 24 ชั่วโมง ตามลำดับ นำตัวอย่างที่ได้ไปวิเคราะห์หา ความเข้มข้นของน้ำตาลรีดิวซ์ ความเข้มข้นของมวลเซลล์ และความเข้มข้นของเอทานอล

3.5.2.8 การศึกษาค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เริ่มต้นที่เหมาะสมที่มีน้ำตาลรีดิวซ์เริ่มต้นเท่ากับ 100 กรัมต่อลิตร และอัตราการเขย่า 200 รอบต่อนาที

นำอาหารเลี้ยงเชื้อสูตรอุดม ที่ปรับความเข้มข้นของน้ำตาลรีดิวซ์เท่ากับ 100 กรัมต่อลิตร ปริมาตร 300 มิลลิลิตร ใส่ลงในขวดรูปชมพูนิกพิเศษ ขนาด 500 มิลลิลิตร จากนั้นแปรผันค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เริ่มต้นเป็น 4 ระดับคือ 5.5 6.0 6.5 และ 7.0 ตามลำดับ ด้วย 1 โมลาร์ H_2SO_4 และ 1 โมลาร์ NaOH ให้ทำตัวอย่างละ 2 ซ้ำรวมเป็นตัวอย่างทั้งหมดเท่ากับ 8 ตัวอย่าง ปิดด้วยจุกสำลีและปิดทับด้วยอะลูมิเนียมฟอล์ย นำไปนึ่งในเครื่องนึ่งฆ่าเชื้อด้วยความดันไอน้ำที่อุณหภูมิ $121^{\circ}C$ เป็นเวลา 15 นาที ทิ้งให้เย็นในตู้ถ่ายเชื้อ จากนั้นทำการเติมน้ำกลั่นเพื่อเริ่มต้นร้อยละ 15 (โดยปริมาตร) ปิดขวดด้วย air lock ที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อและเติมน้ำกลั่น นำขวดหมักที่ได้ไปบ่มที่อุณหภูมิ $30^{\circ}C$ ที่อัตราการเขย่า 200 รอบต่อนาที เก็บตัวอย่างจากขวดหมักที่เวลา 0 4 8 12 16 20 และ 24 ชั่วโมง ตามลำดับ นำตัวอย่างที่ได้ไปวิเคราะห์หา ความเข้มข้นของน้ำตาลรีดิวซ์ ความเข้มข้นของมวลเซลล์ และความเข้มข้นของเอทานอล

3.5.2.9 การศึกษาค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เริ่มต้นที่เหมาะสมที่มีน้ำตาลรีดิวซ์เริ่มต้นเท่ากับ 150 กรัมต่อลิตร และอัตราการเขย่า 0 รอบต่อนาที

นำอาหารเลี้ยงเชื้อสูตรอุดม ที่ปรับความเข้มข้นของน้ำตาลรีดิวซ์เท่ากับ 150 กรัมต่อลิตร ปริมาตร 300 มิลลิลิตร ใส่ลงในขวดรูปชมพูนิกพิเศษ ขนาด 500 มิลลิลิตร จากนั้นแปรผันค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เริ่มต้นเป็น 4 ระดับคือ 5.5 6.0 6.5 และ 7.0 ตามลำดับ ด้วย 1 โมลาร์ H_2SO_4 และ 1 โมลาร์ NaOH ให้ทำตัวอย่างละ 2 ซ้ำรวมเป็นตัวอย่างทั้งหมดเท่ากับ 8 ตัวอย่าง ปิดด้วยจุกสำลีและปิดทับด้วยอะลูมิเนียมฟอล์ย นำไปนึ่งในเครื่องนึ่งฆ่าเชื้อด้วยความดันไอน้ำที่อุณหภูมิ $121^{\circ}C$ เป็นเวลา 15 นาที ทิ้งให้เย็นในตู้ถ่ายเชื้อ จากนั้นทำการเติมน้ำกลั่นเพื่อเริ่มต้นร้อยละ 15 (โดยปริมาตร) ปิดขวดด้วย air lock ที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อและเติมน้ำกลั่น นำขวดหมักที่ได้ไปบ่มที่อุณหภูมิ $30^{\circ}C$ โดยไม่ต้องเขย่า เก็บตัวอย่างจากขวดหมักที่เวลา 0 4 8 12 16 20 24 28 32 และ 36

ชั่วโมง ตามลำดับ นำตัวอย่างที่ได้ไปวิเคราะห์หา ความเข้มข้นของน้ำตาลรีดิวซ์ ความเข้มข้นของมวลเซลล์ และความเข้มข้นของเอทานอล

3.5.2.10 การศึกษาค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เริ่มต้นที่เหมาะสมที่มีน้ำตาลรีดิวซ์เริ่มต้นเท่ากับ 150 กรัมต่อลิตร และอัตราการใช้ 100 รอบต่อนาที

นำอาหารเลี้ยงเชื้อสูตรอุดม ที่ปรับความเข้มข้นของน้ำตาลรีดิวซ์เท่ากับ 150 กรัมต่อลิตร ปริมาตร 300 มิลลิลิตร ใส่ลงในขวดรูปชมพูนิกพิเศษ ขนาด 500 มิลลิลิตร จากนั้นแปรผันค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เริ่มต้นเป็น 4 ระดับคือ 5.5 6.0 6.5 และ 7.0 ตามลำดับ ด้วย 1 โมลาร์ H_2SO_4 และ 1 โมลาร์ NaOH ให้ทำตัวอย่างละ 2 ข้างรวมเป็นตัวอย่างทั้งหมดเท่ากับ 8 ตัวอย่าง ปิดด้วยจุกสำลีและปิดทับด้วยอะลูมิเนียมฟอล์ย นำไปนึ่งในเครื่องนึ่งฆ่าเชื้อด้วยความดันไอน้ำที่อุณหภูมิ $121^{\circ}C$ เป็นเวลา 15 นาที ทิ้งให้เย็นในตู้ถ่ายเชื้อ จากนั้นทำการเติมกลีเซอรอลเริ่มต้นร้อยละ 15 (โดยปริมาตร) ปิดขวดด้วย air lock ที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อและเติมน้ำกลั่น นำขวดหมักที่ได้ไปบ่มที่อุณหภูมิ $30^{\circ}C$ ที่อัตราการเขย่า 100 รอบต่อนาที เก็บตัวอย่างจากขวดหมักที่เวลา 0 4 8 12 16 20 24 28 32 และ 36 ชั่วโมง ตามลำดับ นำตัวอย่างที่ได้ไปวิเคราะห์หา ความเข้มข้นของน้ำตาลรีดิวซ์ ความเข้มข้นของมวลเซลล์ และความเข้มข้นของเอทานอล

3.5.2.11 การศึกษาค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เริ่มต้นที่เหมาะสมที่มีน้ำตาลรีดิวซ์เริ่มต้นเท่ากับ 150 กรัมต่อลิตร และอัตราการใช้ 200 รอบต่อนาที

นำอาหารเลี้ยงเชื้อสูตรอุดม ที่ปรับความเข้มข้นของน้ำตาลรีดิวซ์เท่ากับ 150 กรัมต่อลิตร ปริมาตร 300 มิลลิลิตร ใส่ลงในขวดรูปชมพูนิกพิเศษ ขนาด 500 มิลลิลิตร จากนั้นแปรผันค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เริ่มต้นเป็น 4 ระดับคือ 5.5 6.0 6.5 และ 7.0 ตามลำดับ ด้วย 1 โมลาร์ H_2SO_4 และ 1 โมลาร์ NaOH ให้ทำตัวอย่างละ 2 ข้างรวมเป็นตัวอย่างทั้งหมดเท่ากับ 8 ตัวอย่าง ปิดด้วยจุกสำลีและปิดทับด้วยอะลูมิเนียมฟอล์ย นำไปนึ่งในเครื่องนึ่งฆ่าเชื้อด้วยความดันไอน้ำที่อุณหภูมิ $121^{\circ}C$ เป็นเวลา 15 นาที ทิ้งให้เย็นในตู้ถ่ายเชื้อ จากนั้นทำการเติมกลีเซอรอลเริ่มต้นร้อยละ 15 (โดยปริมาตร) ปิดขวดด้วย air lock ที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อและเติมน้ำกลั่น นำขวดหมักที่ได้ไปบ่มที่อุณหภูมิ $30^{\circ}C$ ที่อัตราการเขย่า 200 รอบต่อนาที เก็บตัวอย่างจากขวดหมักที่เวลา 0 4 8 12 16 20 24 28 32 และ 36 ชั่วโมง ตามลำดับ นำตัวอย่างที่ได้ไปวิเคราะห์หา ความเข้มข้นของน้ำตาลรีดิวซ์ ความเข้มข้นของมวลเซลล์ และความเข้มข้นของเอทานอล

3.5.2.12 การศึกษาความเข้มข้นของน้ำตาลรีดิวซ์ และอัตราการใช้ที่เหมาะสม สำหรับการหมักเพื่อผลิตเอทานอลโดยใช้น้ำเชื่อมที่มีน้ำตาลรีดิวซ์เริ่มต้นเท่ากับ 50 100 และ 150 กรัมต่อลิตร ที่อัตราการเขย่า 0 100 และ 200 รอบต่อนาที

นำอาหารเลี้ยงเชื้อสูตรอุดม ที่ปรับความเข้มข้นของน้ำตาลรีดิวซ์เท่ากับ 50 กรัมต่อลิตร ปริมาตร 300 มิลลิลิตร ใส่ลงในขวดรูปชมพูนิกพิเศษ ขนาด 500 มิลลิลิตร จากนั้นแปรผันค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เริ่มต้นที่เหมาะสมตามข้อ 3.5.2.3-3.5.2.5 ด้วย 1 โมลาร์ H_2SO_4 และ 1 โมลาร์ NaOH ให้ทำตัวอย่างละ 2 ข้างรวมเป็นตัวอย่างทั้งหมดเท่ากับ 6 ตัวอย่าง ปิดด้วยจุกสำลีและปิดทับด้วยอะลูมิเนียมฟอล์ยนำไปนึ่งในเครื่องนึ่งฆ่าเชื้อด้วยความดันไอน้ำที่อุณหภูมิ $121^{\circ}C$ เป็นเวลา 15 นาที ทิ้งให้เย็นในตู้ถ่ายเชื้อจากนั้นทำการเติมกลีเซอรอลเริ่มต้นร้อยละ 15 (โดยปริมาตร) ปิดขวดด้วย air lock ที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อและเติมน้ำกลั่น นำขวดหมักที่ได้ไปบ่มที่อุณหภูมิ $30^{\circ}C$ ที่อัตราการเขย่าละ 2 ตัวอย่างได้แก่ 0 100 และ 200 รอบต่อนาที เก็บตัวอย่างจากขวดหมักที่เวลา 0 4 8 12

16 20 และ 24 ชั่วโมง ตามลำดับ นำตัวอย่างที่ได้ไปวิเคราะห์หา ความเข้มข้นของน้ำตาลรีดิวซ์ ความเข้มข้นของมวลเซลล์ และความเข้มข้นของเอทานอล

นำอาหารเลี้ยงเชื้อสูตรอุดม ที่ปรับความเข้มข้นของน้ำตาลรีดิวซ์เท่ากับ 100 กรัมต่อลิตร ปริมาตร 300 มิลลิลิตร ใส่ลงในขวดรูปชมพูนิกพิเศษ ขนาด 500 มิลลิลิตร จากนั้นแปรผันค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เริ่มต้นที่เหมาะสมตามข้อ 3.5.2.6-3.5.2.8 ตามลำดับ ด้วย 1 โมลาร์ H_2SO_4 และ 1 โมลาร์ NaOH ให้ทำตัวอย่างละ 2 ข้างรวมเป็นตัวอย่างทั้งหมดเท่ากับ 6 ตัวอย่าง ปิดด้วยจุกสำลีและปิดทับด้วยอะลูมิเนียมฟอล์ย นำไปนึ่งในเครื่องนึ่งฆ่าเชื้อด้วยความดันไอน้ำที่อุณหภูมิ $121^{\circ}C$ เป็นเวลา 15 นาที ทิ้งให้เย็นในตู้ถ่ายเชื้อ จากนั้นทำการเติมกล้าเชื้อเริ่มต้นร้อยละ 15 (โดยปริมาตร) ปิดขวดด้วย air lock ที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อและเติมน้ำกลั่น นำขวดหมักที่ได้ไปบ่มที่อุณหภูมิ $30^{\circ}C$ ที่อัตราการเขย่าละ 2 ตัวอย่างได้แก่ 0 100 และ 200 รอบต่อนาที เก็บตัวอย่างจากขวดหมักที่เวลา 0 4 8 12 16 20 และ 24 ชั่วโมง ตามลำดับ นำตัวอย่างที่ได้ไปวิเคราะห์หา ความเข้มข้นของน้ำตาลรีดิวซ์ ความเข้มข้นของมวลเซลล์ และความเข้มข้นของเอทานอล

นำอาหารเลี้ยงเชื้อสูตรอุดม ที่ปรับความเข้มข้นของน้ำตาลรีดิวซ์เท่ากับ 150 กรัมต่อลิตร ปริมาตร 300 มิลลิลิตร ใส่ลงในขวดรูปชมพูนิกพิเศษ ขนาด 500 มิลลิลิตร จากนั้นแปรผันค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เริ่มต้นที่เหมาะสมตามข้อ 3.5.2.9-3.5.2.11 ตามลำดับ ด้วย 1 โมลาร์ H_2SO_4 และ 1 โมลาร์ NaOH ให้ทำตัวอย่างละ 2 ข้างรวมเป็นตัวอย่างทั้งหมดเท่ากับ 6 ตัวอย่าง ปิดด้วยจุกสำลีและปิดทับด้วยอะลูมิเนียมฟอล์ย นำไปนึ่งในเครื่องนึ่งฆ่าเชื้อด้วยความดันไอน้ำที่อุณหภูมิ $121^{\circ}C$ เป็นเวลา 15 นาที ทิ้งให้เย็นในตู้ถ่ายเชื้อ จากนั้นทำการเติมกล้าเชื้อเริ่มต้นร้อยละ 15 (โดยปริมาตร) ปิดขวดด้วย air lock ที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อและเติมน้ำกลั่น นำขวดหมักที่ได้ไปบ่มที่อุณหภูมิ $30^{\circ}C$ ที่อัตราการเขย่าละ 2 ตัวอย่างได้แก่ 0 100 และ 200 รอบต่อนาที เก็บตัวอย่างจากขวดหมักที่เวลา 0 4 8 12 16 20 24 28 32 และ 36 ชั่วโมง ตามลำดับ นำตัวอย่างที่ได้ไปวิเคราะห์หา ความเข้มข้นของน้ำตาลรีดิวซ์ ความเข้มข้นของมวลเซลล์ และความเข้มข้นของเอทานอล

3.5.2.13 การศึกษาหาแหล่งไนโตรเจนที่เหมาะสมในอาหารเลี้ยงเชื้อสูตรปรับต่ำในระดับขวดเขย่า ขนาด 500 มิลลิลิตร

นำอาหารเลี้ยงเชื้อสูตรปรับต่ำ ที่ปรับความเข้มข้นของน้ำตาลรีดิวซ์เริ่มต้นที่เหมาะสมตามข้อ 3.5.2.12 ปริมาตร 300 มิลลิลิตร ใส่ลงในขวดรูปชมพูนิกพิเศษ ขนาด 500 มิลลิลิตร เติมแหล่งไนโตรเจนที่ต้องการศึกษาได้แก่ $(NH_4)_2SO_4$ หรือ NH_4Cl อย่างละ 1 กรัมต่อลิตร และชุดควบคุมที่ไม่เติมแหล่งไนโตรเจน จากนั้นปรับค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เริ่มต้นที่เหมาะสมตามข้อ 3.5.2.12 ด้วย 1 โมลาร์ H_2SO_4 และ 1 โมลาร์ NaOH ให้ทำตัวอย่างละ 2 ข้างรวมเป็นตัวอย่างทั้งหมด 6 ตัวอย่าง ปิดด้วยจุกสำลี และปิดทับด้วยอะลูมิเนียมฟอล์ย นำไปนึ่งในเครื่องนึ่งฆ่าเชื้อด้วยความดันไอน้ำที่อุณหภูมิ $121^{\circ}C$ เป็นเวลา 15 นาที ทิ้งให้เย็นในตู้ถ่ายเชื้อ จากนั้นทำการเติมกล้าเชื้อเริ่มต้นร้อยละ 15 (โดยปริมาตร) ปิดขวดด้วย air lock ที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อและเติมน้ำกลั่น นำขวดหมักที่ได้ไปบ่มที่อุณหภูมิ $30^{\circ}C$ โดยใช้อัตราการเขย่าที่เหมาะสมตามข้อ 3.5.2.12 เก็บตัวอย่างจากขวดหมักที่เวลา 0 4 8 12 16 20 24 28 32 และ 36 ชั่วโมง ตามลำดับ นำตัวอย่างที่ได้ไปวิเคราะห์หา ความเข้มข้นของน้ำตาลรีดิวซ์ ความเข้มข้นของมวลเซลล์ และความเข้มข้นของเอทานอล

3.5.3 การศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการหมักเพื่อผลิตเอทานอลในอาหารเลี้ยงเชื้อสูตรปรับต่ำในถังปฏิกรณ์ชีวภาพแบบถังกวน ขนาด 5 ลิตร ซึ่งมีขั้นตอนและวิธีการทดลองดังนี้

3.5.3.1 การหมักแบบกะ

ก) การศึกษาหาความเร็วรอบของใบกวนที่เหมาะสม

นำอาหารเลี้ยงเชื้อสูตรปรับต่ำที่ได้ตามข้อ 3.5.2.13 ปริมาตร 4 ลิตร ใส่ลงในถังปฏิกรณ์ชีวภาพแบบถังกวน ขนาด 5 ลิตร ปิดอุปกรณ์ต่าง ๆ ของถังด้วยอะลูมิเนียมฟอล์ย นำไปตั้งในเครื่องนึ่งฆ่าเชื้อด้วยความดันไอน้ำที่อุณหภูมิ 121°C เป็นเวลา 30-35 นาที ทิ้งให้เย็นและเชื่อมต่ออุปกรณ์ต่าง ๆ เข้ากับเครื่องควบคุม (controller) และเครื่องควบคุมอุณหภูมิ (cooling) จากนั้นเติมน้ำเชื้อเริ่มต้นร้อยละ 15 (โดยปริมาตร) ควบคุมอุณหภูมิภายในถัง 30°C ศึกษาการหมักโดยแปรผันความเร็วรอบของใบกวนที่ต้องการศึกษาเป็น 3 ระดับคือ 50 100 และ 200 รอบต่อนาที ตามลำดับ ทำการเก็บตัวอย่างจากถังหมักที่เวลา 0 4 8 12 16 20 24 28 32 และ 36 ชั่วโมง ตามลำดับ นำตัวอย่างที่ได้ไปวิเคราะห์หา ความเข้มข้นของน้ำตาลรีดิวซ์ ความเข้มข้นของมวลเซลล์ และความเข้มข้นของเอทานอล

ข) การศึกษาหาปริมาณน้ำเชื้อเริ่มต้นที่เหมาะสม

นำอาหารเลี้ยงเชื้อสูตรปรับต่ำที่ได้ตามข้อ 3.5.2.13 ปริมาตร 4 ลิตร ใส่ลงในถังปฏิกรณ์ชีวภาพแบบถังกวน ขนาด 5 ลิตร ปิดอุปกรณ์ต่าง ๆ ของถังด้วยอะลูมิเนียมฟอล์ย นำไปตั้งในเครื่องนึ่งฆ่าเชื้อด้วยความดันไอน้ำที่อุณหภูมิ 121°C เป็นเวลา 30-35 นาที ทิ้งให้เย็นและเชื่อมต่ออุปกรณ์ต่าง ๆ เข้ากับเครื่องควบคุม และเครื่องควบคุมอุณหภูมิ ปรับความเร็วรอบของใบกวนที่เหมาะสมที่ได้จากข้อ 3.5.3.1.1 จากนั้นเติมน้ำเชื้อเริ่มต้นโดยแปรผันเป็น 3 ระดับคือ ร้อยละ 10 15 และ 20 (โดยปริมาตร) ตามลำดับ ควบคุมอุณหภูมิภายในถัง 30°C ทำการเก็บตัวอย่างจากถังหมักที่เวลา 0 4 8 12 16 20 24 28 32 และ 36 ชั่วโมง ตามลำดับ นำตัวอย่างที่ได้ไปวิเคราะห์หา ความเข้มข้นของน้ำตาลรีดิวซ์ ความเข้มข้นของมวลเซลล์ และความเข้มข้นของเอทานอล

ค) การศึกษาการหมักเพื่อผลิตเอทานอลที่สภาวะความเป็นกรด-ด่าง (pH) คงที่

นำอาหารเลี้ยงเชื้อสูตรปรับต่ำที่ได้ตามข้อ 3.5.2.13 ปริมาตร 4 ลิตร ใส่ลงในถังปฏิกรณ์ชีวภาพแบบถังกวน ขนาด 5 ลิตร ปิดอุปกรณ์ต่าง ๆ ของถังด้วยอะลูมิเนียมฟอล์ย นำไปตั้งในเครื่องนึ่งฆ่าเชื้อด้วยความดันไอน้ำที่อุณหภูมิ 121°C เป็นเวลา 30-35 นาที ทิ้งให้เย็นและเชื่อมต่ออุปกรณ์ต่าง ๆ เข้ากับเครื่องควบคุม และเครื่องควบคุมอุณหภูมิ ปรับความเร็วรอบของใบกวนที่เหมาะสมที่ได้จากข้อ 3.5.3.1.1 จากนั้นเติมน้ำเชื้อเริ่มต้นที่เหมาะสมที่ได้จากข้อ 3.5.3.1.2 ทำการหมักโดยควบคุมค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เป็น 2 ระดับคือ 5.5 และ 6.5 ด้วย 2 โมลาร์ NaOH และ 1 โมลาร์ H_2SO_4 ควบคุมอุณหภูมิภายในถัง 30°C ทำการเก็บตัวอย่างจากถังหมักที่เวลา 0 4 8 12 16 20 24 28 32 และ 36 ชั่วโมง ตามลำดับ นำตัวอย่างที่ได้ไปวิเคราะห์หา ความเข้มข้นของน้ำตาลรีดิวซ์ ความเข้มข้นของมวลเซลล์ และความเข้มข้นของเอทานอล

3.5.3.2 การหมักแบบกึ่งกะ

นำอาหารเลี้ยงเชื้อสูตรปรับต่ำที่ได้ตามข้อ 3.5.2.13 ปริมาตรเริ่มต้น 2 ลิตร ใส่ลงในถังปฏิกรณ์ชีวภาพแบบถังกวน ขนาด 5 ลิตร ปิดอุปกรณ์ต่าง ๆ ของถังด้วยอะลูมิเนียมฟอล์ย นำไปตั้งในเครื่องนึ่งฆ่าเชื้อด้วยความดันไอน้ำที่อุณหภูมิ 121°C เป็นเวลา 30-35 นาที ทิ้งให้เย็นและเชื่อมต่ออุปกรณ์ต่าง ๆ เข้ากับเครื่องควบคุม และเครื่องควบคุมอุณหภูมิ ปรับความเร็วรอบของใบกวนที่เหมาะสมที่ได้จากข้อ 3.5.3.1.1 จากนั้นเติมน้ำเชื้อเริ่มต้น

ที่เหมาะสมที่ได้จากข้อ 3.5.3.1.2 ทำการหมักแบบกึ่งกะ โดยให้ได้ความเข้มข้นของน้ำตาลรีดิวซ์ทั้งหมดเท่ากับ 200 กรัมต่อลิตร และปริมาตรสุดท้ายของอาหารเลี้ยงเชื้อเท่ากับ 4 ลิตร ขั้นตอนการเติมอาหารเลี้ยงเชื้อมี 3 รูปแบบดังนี้คือ 1) เติมอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีน้ำตาลรีดิวซ์เข้มข้น 75 กรัมต่อลิตร ปริมาตร 250 มิลลิลิตร จำนวน 8 ครั้ง 2) เติมอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีน้ำตาลรีดิวซ์เข้มข้น 150 กรัมต่อลิตร ปริมาตร 500 มิลลิลิตร จำนวน 4 ครั้ง และ 3) เติมอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีน้ำตาลรีดิวซ์เข้มข้น 300 กรัมต่อลิตร ปริมาตร 1 ลิตร จำนวน 2 ครั้ง ควบคุมอุณหภูมิภายในถัง 30° ซ และเติมน้ำตาลรีดิวซ์ในช่วงที่แบคทีเรียมีการเจริญเติบโตแบบทวีคูณ ทำการเก็บตัวอย่างต่อเนื่อง นำตัวอย่างที่ได้ไปวิเคราะห์หา ความเข้มข้นของน้ำตาล รีดิวซ์ ความเข้มข้นของมวลเซลล์ และความเข้มข้นของเอทานอล

3.6 การวิเคราะห์

3.6.1 การวิเคราะห์น้ำตาลรีดิวซ์โดยใช้กรดไคโนโตรซาลิไซลิก (Bernfeld, 1955)

ปิเปตสารละลายตัวอย่างที่ต้องการหาปริมาณน้ำตาลปริมาตร 0.1-1.0 มิลลิลิตร ใส่ลงในหลอดแก้วสำหรับหลอด Blank ให้ใช้น้ำกลั่นแทน จากนั้นเติมสารละลายกรดไคโนโตรซาลิไซลิกปริมาตร 1 มิลลิลิตรผสมให้เข้ากัน นำไปต้มในน้ำเดือดเป็นเวลา 10 นาที ในระหว่างต้มควรใช้ลูกแก้ววางปากหลอดแก้ว ทำให้เย็นโดยเร็ว โดยนำหลอดแก้วมาแช่ในน้ำแข็งที่ละลายหรือในอ่างน้ำที่เปิดให้ไหลตลอดเวลา จากนั้นเติมน้ำปริมาตร 10 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 520 นาโนเมตร (A_{520}) สำหรับกราฟมาตรฐานจะใช้น้ำตาลกลูโคสเป็นสารมาตรฐาน และนำสารละลายมาตรฐานไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 520 นาโนเมตร ซึ่งจะได้กราฟมาตรฐาน (ภาคผนวก ก)

3.6.2 การวิเคราะห์มวลเซลล์ (ดัดแปลงจาก Siva Kesava *et al.*, 1995)

การวิเคราะห์มวลเซลล์โดยการวัดค่าการดูดกลืนแสงของอาหารเลี้ยงเชื้อที่ความยาวคลื่น 550 นาโนเมตร (A_{550}) และนำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้ไปเทียบกับกราฟมาตรฐานระหว่างค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 550 นาโนเมตร (A_{550}) กับความเข้มข้นของมวลเซลล์ (ภาคผนวก ข) สำหรับการวิเคราะห์มวลเซลล์ทำได้ดังนี้คือ ปิเปตอาหารเลี้ยงเชื้อปริมาตร 1.0-1.5 มิลลิลิตร ใส่ลงในหลอดทดลองขนาดเล็กที่ผ่านการอบแห้งที่อุณหภูมิ 80° ซ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จนน้ำหนักคงที่ จากนั้นนำหลอดทดลองไปปั่นเหวี่ยงที่ ความเร็วรอบ 13,000 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 4° ซ เป็นเวลา 10 นาที ทำการล้างเซลล์ด้วยน้ำกลั่นจำนวน 2 ครั้ง นำหลอดทดลองที่ได้ไปอบที่อุณหภูมิ 80° ซ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จนน้ำหนักคงที่

3.6.3 การวิเคราะห์เอทานอลด้วยวิธี external standard

เตรียมสารละลายตัวอย่างโดยการปิเปตสารละลายตัวอย่างปริมาตร 1.5 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดลอง นำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 13,000 รอบต่อนาที จากนั้นกรองผ่านกระดาษกรองที่มีรูพรุนขนาด 0.45 ไมครอน นำตัวอย่างที่ได้ปริมาตร 1 ไมโครลิตรฉีดเข้าเครื่อง gas chromatography (GC รุ่น 14B) โดยสภาวะของเครื่องคือ ใช้ก๊าซไนโตรเจน (N_2) เป็นก๊าซตัวพา (carrier gas) ซึ่งจะไหลผ่าน injector ที่มีอุณหภูมิ 180° ซ ด้วยความดัน 200 kPa และใช้ก๊าซไฮโดรเจน (H_2) เป็นก๊าซเผาไหม้ (fuel gas) ร่วมกับก๊าซออกซิเจน (O_2) ที่ความดัน 70 kPa จากนั้นจะไหลผ่านแพคคอลัมน์ (20 % Polyethyleneglycol column) ที่อุณหภูมิระหว่าง 150-220° ซ และจะไหลเข้าสู่ตัวตรวจวัด (flame ionization detector, FID) ที่มีอุณหภูมิ 250° ซ ซึ่งสัญญาณที่วัดได้จะถูกส่งเข้าเครื่องประมวลผล (integrator) เพื่อนำไปวิเคราะห์หาความเข้มข้นของเอทานอลเทียบกับกราฟมาตรฐาน

บทที่ 4

ผลการทดลอง

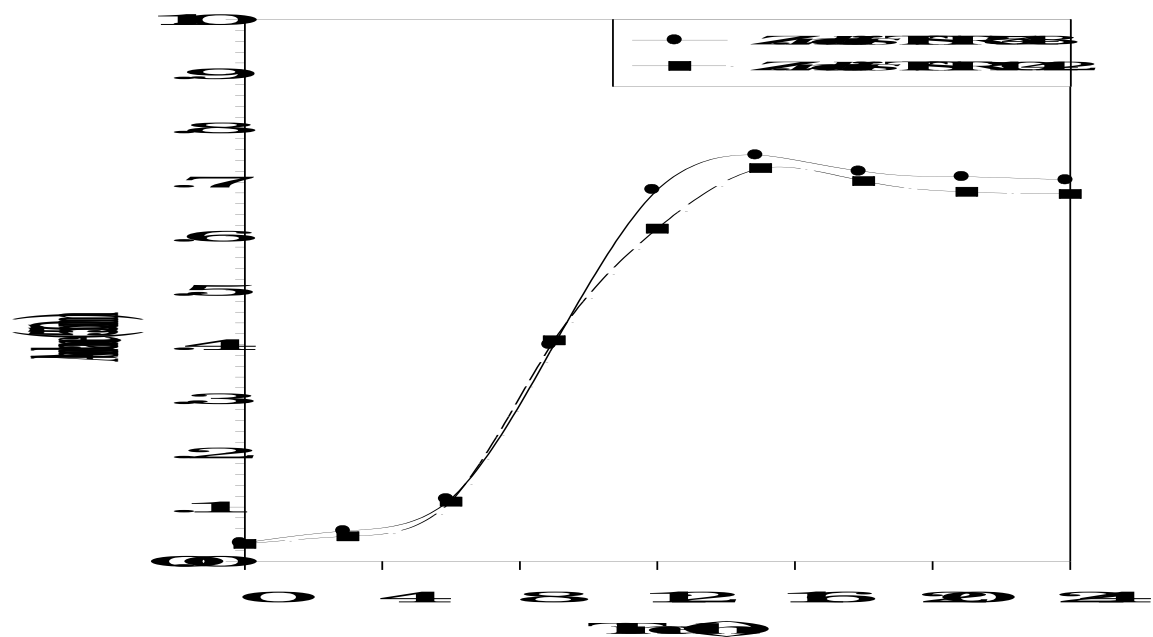
4.1 การศึกษาเปรียบเทียบแบคทีเรีย *Z. mobilis*

4.1.1 การศึกษาการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย *Z. mobilis* โดยใช้อาหารเลี้ยงเชื้อสูตร yeast extract-peptone glucose

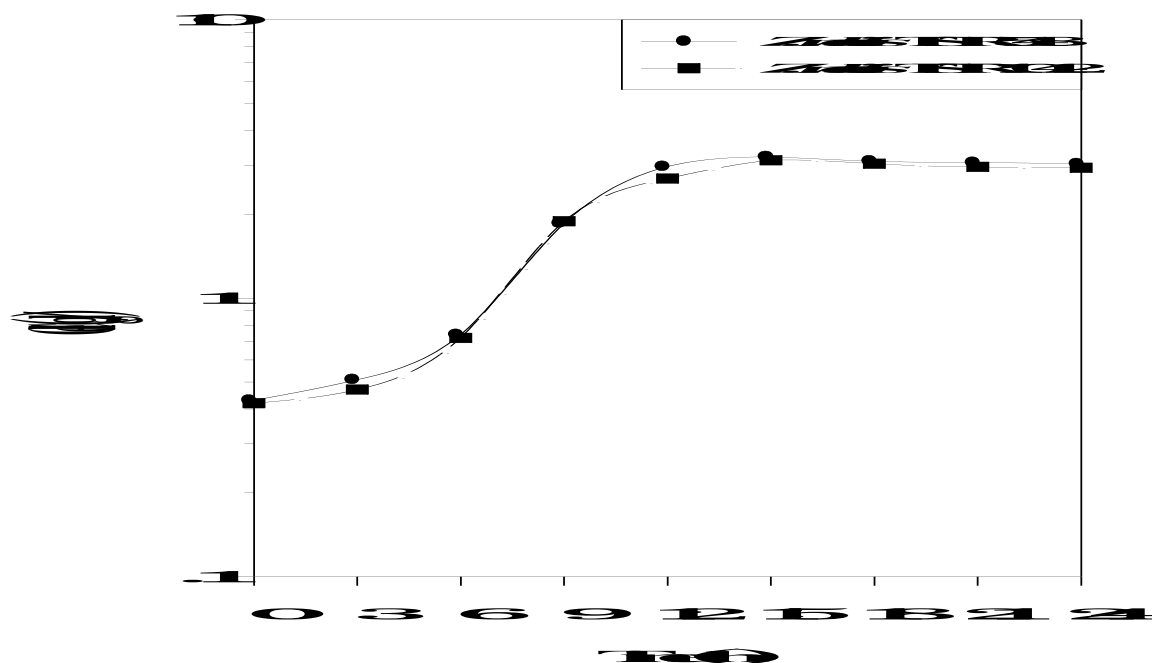
จากการทดลอง พบว่าแบคทีเรีย *Z. mobilis* ทั้ง 2 สายพันธุ์ ซึ่งได้แก่ *Z. mobilis* TISTR 548 และ *Z. mobilis* TISTR 1042 สามารถที่จะเจริญเติบโตได้อย่างรวดเร็วในอาหารเลี้ยงเชื้อสูตร yeast extract-peptone glucose เมื่อเปรียบเทียบการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย *Z. mobilis* ทั้ง 2 สายพันธุ์ โดยการติดตามการเจริญเติบโตของแบคทีเรียจากการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 550 นาโนเมตร (A_{550}) และน้ำหนักแห้งของมวลเซลล์ พบว่าค่าการดูดกลืนแสงของแบคทีเรีย *Z. mobilis* ทั้ง 2 สายพันธุ์จะมีค่าใกล้เคียงกันดังแสดงในภาพที่ 5 โดยที่ค่าการดูดกลืนแสงในชั่วโมงที่ 0 ถึงชั่วโมงที่ 3 จะมีค่าเพิ่มสูงขึ้นเพียงเล็กน้อย แต่การดูดกลืนแสงของแบคทีเรีย *Z. mobilis* TISTR 548 จะมีค่าสูงกว่าแบคทีเรีย *Z. mobilis* TISTR 1042 หลังจากนั้นตั้งแต่ชั่วโมงที่ 6 จนกระทั่งถึงชั่วโมงที่ 12 พบว่าการดูดกลืนแสงของแบคทีเรีย *Z. mobilis* TISTR 548 จะมีค่าเพิ่มสูงขึ้นอย่างรวดเร็ว ในขณะที่แบคทีเรีย *Z. mobilis* TISTR 1042 จะมีค่าการดูดกลืนแสงเพิ่มสูงขึ้นอย่างรวดเร็วในช่วงระหว่างชั่วโมงที่ 6 จนกระทั่งถึงชั่วโมงที่ 15 ซึ่งช้ากว่าแบคทีเรีย *Z. mobilis* TISTR 548 รวมทั้งมีค่าการดูดกลืนแสงต่ำกว่าในช่วงระหว่างชั่วโมงที่ 9 จนกระทั่งถึงชั่วโมงที่ 24 อย่างไรก็ตามค่าการดูดกลืนแสงของแบคทีเรีย *Z. mobilis* ทั้ง 2 สายพันธุ์จะมีค่าสูงสุดที่ระยะเวลาเท่ากันคือ ชั่วโมงที่ 15 ซึ่งหลังจากชั่วโมงที่ 15 พบว่าค่าการดูดกลืนแสงของแบคทีเรีย *Z. mobilis* ทั้ง 2 สายพันธุ์ จะมีค่าลดลงจนกระทั่งถึงชั่วโมงที่ 18 และจะมีค่าค่อนข้างคงที่จนกระทั่งถึงชั่วโมงที่ 24

เมื่อเปรียบเทียบน้ำหนักแห้งของมวลเซลล์ พบว่าจะมีลักษณะเช่นเดียวกับค่าการดูดกลืนแสง(ภาพที่ 6) ทั้งนี้เพราะในช่วงระหว่างชั่วโมงที่ 0 ถึงชั่วโมงที่ 3 แบคทีเรีย *Z. mobilis* ทั้ง 2 สายพันธุ์จะมีความเข้มข้นของมวลเซลล์เพิ่มสูงขึ้นเพียงเล็กน้อย จนกระทั่งถึงชั่วโมงที่ 6 พบว่าความเข้มข้นของมวลเซลล์ของแบคทีเรีย *Z. mobilis* ทั้ง 2 สายพันธุ์จะมีค่าเพิ่มสูงขึ้นอย่างรวดเร็วและมีค่าใกล้เคียงกันในช่วงระหว่างชั่วโมงที่ 6 ถึงชั่วโมงที่ 9 หลังจากชั่วโมงที่ 9 พบว่าแบคทีเรีย *Z. mobilis* TISTR 548 จะมีความเข้มข้นของมวลเซลล์สูงกว่าแบคทีเรีย *Z. mobilis* TISTR 1042 เล็กน้อยจนกระทั่งถึงชั่วโมงที่ 24

เมื่อเปรียบเทียบค่าอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะที่ได้ พบว่าแบคทีเรีย *Z. mobilis* ทั้ง 2 สายพันธุ์จะมีค่าอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะที่ใกล้เคียงกันมากคือ แบคทีเรีย *Z. mobilis* TISTR 548 จะมีค่าเท่ากับ 0.31 ต่อชั่วโมง (คำนวณในช่วงระหว่างชั่วโมงที่ 6 ถึงชั่วโมงที่ 9) ในขณะที่แบคทีเรีย *Z. mobilis* TISTR 1042 จะมีค่าเท่ากับ 0.32 ต่อชั่วโมง (คำนวณในช่วงระหว่างชั่วโมงที่ 6 ถึงชั่วโมงที่ 9) ซึ่งมีค่าแตกต่างกันน้อยมาก



ภาพที่ 5 ค่าการดูดกลืนแสง (A_{550}) ของแบคทีเรีย *Z. mobilis* TISTR 548 และแบคทีเรีย *Z. mobilis* TISTR 1042 ในอาหารเลี้ยงเชื้อสูตร yeast extract-peptone glucose



ภาพที่ 6 น้ำหนักแห้งของมวลเซลล์ของแบคทีเรีย *Z. mobilis* TISTR 548 และแบคทีเรีย *Z. mobilis* TISTR 1042 ในอาหารเลี้ยงเชื้อสูตร yeast extract-peptone glucose

4.1.2 การศึกษาการหมักเพื่อผลิตเอทานอลของแบคทีเรีย *Z. mobilis* ในอาหารเลี้ยงเชื้อสูตร cultivation medium (จากวิธีของ Siva Kesava *et al.*, 1995)

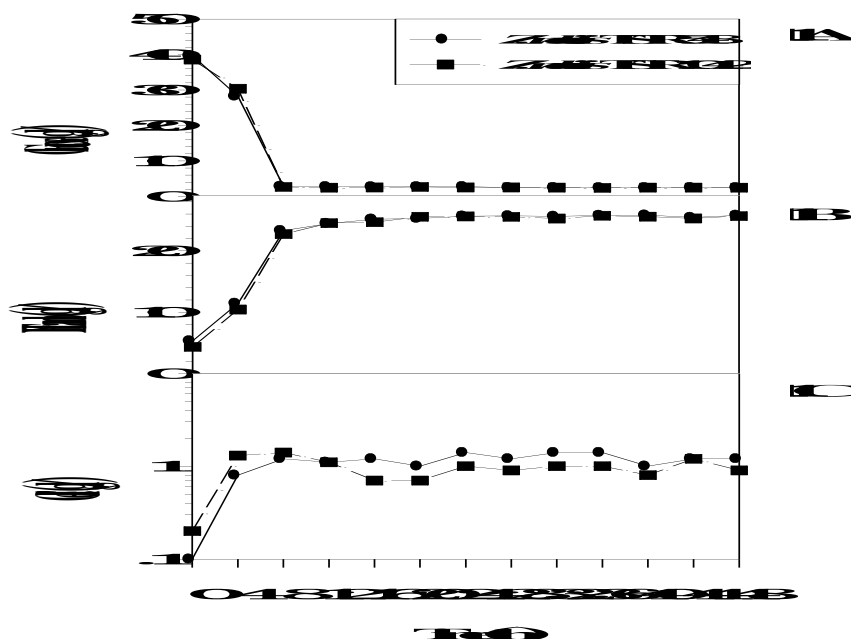
4.1.2.1 ความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคสเริ่มต้นเท่ากับ 50 กรัมต่อลิตร

จากการทดลอง พบว่าแบคทีเรีย *Z. mobilis* ทั้ง 2 สายพันธุ์สามารถใช้ น้ำตาลกลูโคสได้อย่างรวดเร็วภายใน 8 ชั่วโมงแรกของการหมัก (ภาพที่ 7A) และหลังจากชั่วโมงที่ 8 พบว่าความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคสจะมีค่าต่ำสุดและคงที่ตลอดระยะเวลาของการหมัก ความเข้มข้นต่ำสุดของน้ำตาลกลูโคสที่วัดได้จากการหมักโดยแบคทีเรีย *Z. mobilis* TISTR 548 และแบคทีเรีย *Z. mobilis* TISTR 1042 มีค่าเท่ากับ 2.80 และ 2.67 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ โดยใช้ระยะเวลาของการหมักเท่ากับ 8 ชั่วโมง สำหรับความเข้มข้นของเอทานอลที่ผลิตได้พบว่าแบคทีเรีย *Z. mobilis* ทั้ง 2 สายพันธุ์จะผลิตเอทานอลได้ในความเข้มข้นที่ใกล้เคียงกัน (ภาพที่ 7B) โดยที่เอทานอลจะมีความเข้มข้นเพิ่มสูงขึ้นตั้งแต่ชั่วโมงที่ 0 ถึงชั่วโมงที่ 8 ของการหมักและหลังจากชั่วโมงที่ 8 พบว่าความเข้มข้นของเอทานอลจะมีค่าเพิ่มสูงขึ้นอีกเพียงเล็กน้อยและมีค่าคงที่ตลอดระยะเวลาของการหมัก ความเข้มข้นสูงสุดของเอทานอลที่วัดได้จากการหมักโดยแบคทีเรีย *Z. mobilis* TISTR 548 และแบคทีเรีย *Z. mobilis* TISTR 1042 มีค่าเท่ากับ 23.31 และ 22.72 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ สำหรับความเข้มข้นของมวลเซลล์ที่ผลิตได้พบว่าแบคทีเรีย *Z. mobilis* ทั้ง 2 สายพันธุ์จะมีความเข้มข้นของมวลเซลล์เพิ่มสูงขึ้นอย่างรวดเร็วภายใน 4 ชั่วโมงแรกของการหมัก (ภาพที่ 7C) อย่างไรก็ตามความเข้มข้นของมวลเซลล์ของแบคทีเรีย *Z. mobilis* TISTR 1042 จะมี

ค่าสูงกว่าแบคทีเรีย *Z. mobilis* TISTR 548 เพียงเล็กน้อย ซึ่งหลังจากชั่วโมงที่ 4 พบว่าความเข้มข้นของมวลเซลล์ของแบคทีเรีย *Z. mobilis* ทั้ง 2 สายพันธุ์จะมีค่าเพิ่มสูงขึ้นอีกเพียงเล็กน้อยและมีค่าลดลงตั้งแต่ชั่วโมงที่ 12 ซึ่งหลังจากชั่วโมงที่ 12 พบว่าความเข้มข้นของมวลเซลล์ของแบคทีเรีย *Z. mobilis* ทั้ง 2 สายพันธุ์มีค่าเพิ่มสูงขึ้นและลดลงตลอดระยะเวลาของการหมัก ความเข้มข้นสูงสุดของมวลเซลล์ที่วัดได้จากการหมักโดยแบคทีเรีย *Z. mobilis* TISTR 548 และแบคทีเรีย *Z. mobilis* TISTR 1042 จะมีค่าเท่ากับ 1.20 และ 1.40 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ

เมื่อเปรียบเทียบค่าพารามิเตอร์จลนพลศาสตร์ที่ได้จากการหมักเพื่อผลิตเอทานอลของแบคทีเรีย *Z. mobilis* ทั้ง 2 สายพันธุ์ พบว่าแบคทีเรีย *Z. mobilis* ทั้ง 2 สายพันธุ์มีการเจริญเติบโตอย่างรวดเร็วในช่วงระหว่างชั่วโมงที่ 0 ถึงชั่วโมงที่ 4 จนไม่สามารถวัดระยะพักตัวได้ เมื่อเปรียบเทียบค่าอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ พบว่าแบคทีเรีย *Z. mobilis* TISTR 548 จะมีค่าเท่ากับ 0.52 ต่อชั่วโมง (คำนวณในช่วงระหว่างชั่วโมงที่ 0 ถึงชั่วโมงที่ 4) สูงกว่าแบคทีเรีย *Z. mobilis* TISTR 1042 ซึ่งมีค่าเท่ากับ 0.47 ต่อชั่วโมง (คำนวณในช่วงระหว่างชั่วโมงที่ 0 ถึงชั่วโมงที่ 4) เมื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพของการเปลี่ยนน้ำตาลกลูโคส (conversion of glucose) พบว่าแบคทีเรีย *Z. mobilis* TISTR 1042 จะมีค่าสูงกว่าแบคทีเรีย *Z. mobilis* TISTR 548 เพียงเล็กน้อย นอกจากนี้ยังพบว่าผลได้ของมวลเซลล์ (cell yield) ของแบคทีเรีย *Z. mobilis* TISTR 1042 มีค่าสูงกว่าแบคทีเรีย *Z. mobilis* TISTR 548 เพียงเล็กน้อยเช่นเดียวกัน อย่างไรก็ตามเมื่อเปรียบเทียบค่าผลได้ของเอทานอล (ethanol yield) พบว่าแบคทีเรีย *Z. mobilis* TISTR 548 มีค่าเท่ากับ 0.494 กรัมเอทานอลต่อกรัมน้ำตาลกลูโคสที่ถูกใช้ไป สูงกว่าแบคทีเรีย *Z. mobilis* TISTR 1042 ซึ่งมีค่าเท่ากับ 0.480 กรัมเอทานอลต่อกรัมน้ำตาลกลูโคสที่ถูกใช้ไปเพียงเล็กน้อย นอกจากนี้ยังพบว่าประสิทธิภาพของผลได้ของเอทานอล (yield efficiency) จะมีค่าสูงกว่าแบคทีเรีย *Z. mobilis* TISTR 1042 เช่นเดียวกัน เมื่อเปรียบเทียบค่าอัตราผลผลิตของเอทานอล (ethanol productivity) พบว่าแบคทีเรีย *Z. mobilis* TISTR 548 จะมีค่าเท่ากับ 2.92 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง สูงกว่าแบคทีเรีย *Z. mobilis* TISTR 1042 ซึ่งมีค่าเท่ากับ 2.84 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมงเพียงเล็กน้อย

จากการเปรียบเทียบค่าพารามิเตอร์จลนพลศาสตร์ที่ได้จากการหมักเพื่อผลิตเอทานอล พบว่าแบคทีเรีย *Z. mobilis* TISTR 548 จะมีผลได้ของเอทานอลและอัตราผลผลิตของเอทานอลสูงกว่าแบคทีเรีย *Z. mobilis* TISTR 1042 ในช่วงระยะเวลาของการหมักเท่ากัน คือ 8 ชั่วโมง ดังนั้นการเลือกใช้แบคทีเรีย *Z. mobilis* TISTR 548 มีความเหมาะสมมากกว่าแบคทีเรีย *Z. mobilis* TISTR 1042 สำหรับใช้ในการหมักเพื่อผลิตเอทานอลโดยใช้อาหารเลี้ยงเชื้อสูตร cultivation medium ที่มีน้ำตาลกลูโคสเริ่มต้นเท่ากับ 50 กรัมต่อลิตร (ผลได้ของเอทานอลตามทฤษฎีเท่ากับ 0.51 กรัมเอทานอลต่อกรัมน้ำตาลกลูโคสที่ถูกใช้ไป)



ภาพที่ 7 เปรียบเทียบการหมักเพื่อผลิตเอทานอลโดยแบคทีเรีย *Z. mobilis* TISTR 548 และ *Z. mobilis* TISTR 1042 ในอาหารเลี้ยงเชื้อสูตร cultivation medium ที่มีความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคสเริ่มต้นเท่ากับ 50 กรัมต่อลิตร

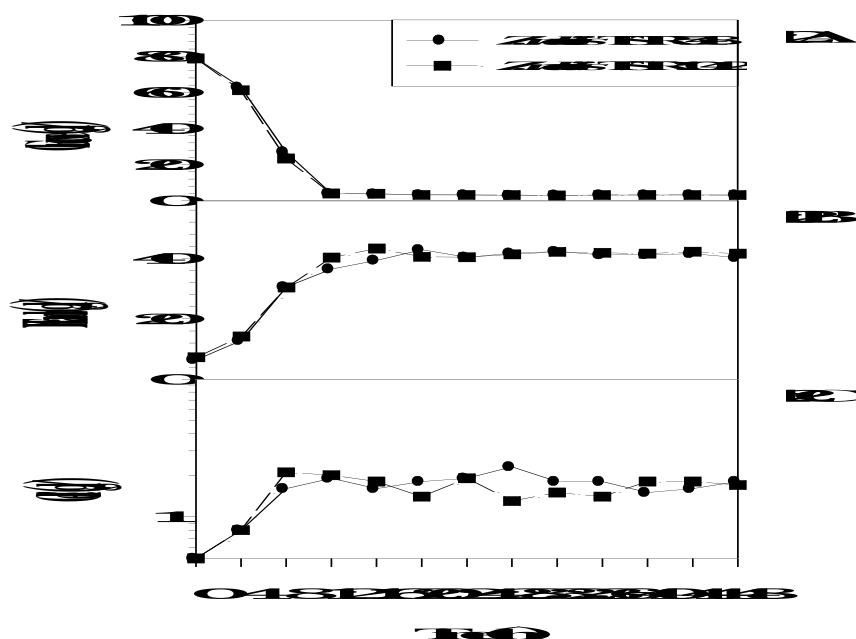
4.1.2.2 ความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคสเริ่มต้นเท่ากับ 100 กรัมต่อลิตร

จากการทดลอง พบว่าแบคทีเรีย *Z. mobilis* ทั้ง 2 สายพันธุ์สามารถใช้น้ำตาลกลูโคสได้อย่างรวดเร็วภายใน 12 ชั่วโมงแรกของการหมัก (ภาพที่ 8A) และหลังจากชั่วโมงที่ 12 พบว่าความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคสจะมีค่าลดลงถึงจุดต่ำสุดและมีค่าคงที่ตลอดระยะเวลาของการหมัก ซึ่งความเข้มข้นต่ำสุดของน้ำตาลกลูโคสที่วัดได้จากการหมักโดยแบคทีเรีย *Z. mobilis* TISTR 548 และแบคทีเรีย *Z. mobilis* TISTR 1042 มีค่าเท่ากับ 3.25 และ 3.87 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ ที่ระยะเวลาของการหมักเท่ากับ 20 และ 16 ชั่วโมง ตามลำดับ สำหรับความเข้มข้นของเอทานอลที่ผลิตได้ พบว่าแบคทีเรีย *Z. mobilis* TISTR 1042 จะผลิตเอทานอลอย่างต่อเนื่องตั้งแต่ชั่วโมงที่ 0 ถึงชั่วโมงที่ 16 และหลังจากชั่วโมงที่ 16 พบว่าความเข้มข้นของเอทานอลจะเริ่มมีค่าลดลง และมีค่าคงที่ตลอดระยะเวลาของการหมัก ในขณะที่แบคทีเรีย *Z. mobilis* TISTR 548 จะผลิตเอทานอลได้ในความเข้มข้นที่ต่ำกว่าแบคทีเรีย *Z. mobilis* TISTR 1042 เล็กน้อยและจะมีความเข้มข้นของเอทานอลสูงสุดที่ชั่วโมงที่ 20 และหลังจากชั่วโมงที่ 20 พบว่าความเข้มข้นของเอทานอลจะมีค่าลดลงและคงที่ตลอดระยะเวลาของการหมัก (ภาพที่ 8B) สำหรับความเข้มข้นสูงสุดของเอทานอลที่ผลิตได้จากการหมักโดยแบคทีเรีย *Z. mobilis* TISTR 548 และแบคทีเรีย *Z. mobilis* TISTR 1042 มีค่าเท่ากับ 42.86 และ 43.27 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ สำหรับความเข้มข้นของมวลเซลล์ที่ผลิตได้ (ภาพที่ 8C) พบว่าในช่วงระหว่างชั่วโมงที่ 0 ถึงชั่วโมงที่ 4 แบคทีเรีย *Z. mobilis* ทั้ง 2 สายพันธุ์จะมีความเข้มข้นของมวลเซลล์เพิ่มสูงขึ้นเท่ากัน แต่หลังจากชั่วโมงที่ 4 ถึงชั่วโมงที่ 8 พบว่าแบคทีเรีย *Z. mobilis* ทั้ง 2 สายพันธุ์จะมีความเข้มข้นของมวลเซลล์เพิ่มสูงขึ้นอย่างรวดเร็ว ซึ่งสูงกว่าในช่วงระหว่างชั่วโมงที่ 0 ถึงชั่วโมงที่ 4 อย่างไรก็ตามในช่วงระหว่างชั่วโมงที่ 4 ถึงชั่วโมงที่ 8 แบคทีเรีย *Z. mobilis*

TISTR 1042 จะมีความเข้มข้นของมวลเซลล์สูงกว่าแบคทีเรีย *Z. mobilis* TISTR 548 ซึ่งหลังจากชั่วโมงที่ 8 พบว่าแบคทีเรีย *Z. mobilis* TISTR 548 จะมีความเข้มข้นของมวลเซลล์เพิ่มสูงขึ้นอีกเพียงเล็กน้อยจนกระทั่งถึงชั่วโมงที่ 12 ในขณะที่แบคทีเรีย *Z. mobilis* TISTR 1042 จะมีความเข้มข้นของมวลเซลล์สูงที่สุดที่ชั่วโมงที่ 8 และหลังจากชั่วโมงที่ 8 พบว่าความเข้มข้นของมวลเซลล์จะมีค่าลดลง ซึ่งจากการทดลองพบว่าความเข้มข้นของมวลเซลล์ของแบคทีเรีย *Z. mobilis* ทั้ง 2 สายพันธุ์จะมีค่าเพิ่มสูงขึ้นและลดลงหลังจากชั่วโมงที่ 12 จนกระทั่งถึงชั่วโมงที่ 48 สำหรับความเข้มข้นสูงสุดของมวลเซลล์สูงสุดที่ผลิตได้จากการหมักโดยแบคทีเรีย *Z. mobilis* TISTR 548 และแบคทีเรีย *Z. mobilis* TISTR 1042 มีค่าเท่ากับ 1.90 และ 2.00 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ

เมื่อเปรียบเทียบค่าพารามิเตอร์จลนพลศาสตร์ที่ได้จากการหมักเพื่อผลิตเอทานอลของแบคทีเรีย *Z. mobilis* ทั้ง 2 สายพันธุ์ พบว่าในช่วงระหว่างชั่วโมงที่ 0 ถึงชั่วโมงที่ 4 แบคทีเรีย *Z. mobilis* ทั้ง 2 สายพันธุ์มีอัตราการเจริญเติบโตต่ำกว่าในช่วงระหว่างชั่วโมงที่ 4 ถึงชั่วโมงที่ 8 ดังนั้นในช่วงระหว่างชั่วโมงที่ 0 ถึงชั่วโมงที่ 4 จึงจัดเป็นระยะที่แบคทีเรียมีการพักตัว อย่างไรก็ตามที่ช่วงระยะเวลาดังกล่าวพบว่าแบคทีเรีย *Z. mobilis* ทั้ง 2 สายพันธุ์จะมีการเจริญเติบโตและเพิ่มจำนวนซึ่งอยู่ในระยะก่อนที่จะเข้าสู่ระยะที่มีการเจริญเติบโตแบบทวีคูณหรือ acceleration phase เมื่อเปรียบเทียบค่าอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ พบว่าแบคทีเรีย *Z. mobilis* TISTR 1042 จะมีค่าเท่ากับ 0.22 ต่อชั่วโมง (คำนวณในช่วงระหว่างชั่วโมงที่ 4 ถึงชั่วโมงที่ 8) สูงกว่าแบคทีเรีย *Z. mobilis* TISTR 548 ซึ่งมีค่าเท่ากับ 0.14 ต่อชั่วโมง (คำนวณในช่วงระหว่างชั่วโมงที่ 4 ถึงชั่วโมงที่ 8) เมื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพของการเปลี่ยนน้ำตาลกลูโคส พบว่าแบคทีเรีย *Z. mobilis* TISTR 548 จะมีค่าสูงกว่าแบคทีเรีย *Z. mobilis* TISTR 1042 เพียงเล็กน้อย สำหรับผลได้ของมวลเซลล์ พบว่าแบคทีเรีย *Z. mobilis* ทั้ง 2 สายพันธุ์จะมีค่าใกล้เคียงกันมาก อย่างไรก็ตามเมื่อเปรียบเทียบค่าผลได้ของเอทานอล พบว่าแบคทีเรีย *Z. mobilis* TISTR 548 จะมีค่าเท่ากับ 0.443 กรัมเอทานอลต่อกรัมน้ำตาลกลูโคสที่ถูกใช้ไปต่ำกว่าแบคทีเรีย *Z. mobilis* TISTR 1042 ซึ่งมีค่าเท่ากับ 0.450 กรัมเอทานอลต่อกรัมน้ำตาลกลูโคสที่ถูกใช้ไปเพียงเล็กน้อย รวมทั้งจะมีประสิทธิภาพของผลได้ของเอทานอลต่ำกว่าแบคทีเรีย *Z. mobilis* TISTR 1042 นอกจากนี้ยังพบว่าค่าอัตราผลผลิตเอทานอลของแบคทีเรีย *Z. mobilis* TISTR 1042 (2.73 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง) มีค่าสูงกว่าแบคทีเรีย *Z. mobilis* TISTR 548 (2.14 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง)

จากการเปรียบเทียบค่าพารามิเตอร์จลนพลศาสตร์ที่ได้จากการหมักเพื่อผลิตเอทานอล พบว่าแบคทีเรีย *Z. mobilis* TISTR 1042 จะมีผลได้ของเอทานอลและอัตราผลผลิตของเอทานอลสูงกว่าแบคทีเรีย *Z. mobilis* TISTR 548 ดังนั้นการเลือกใช้แบคทีเรีย *Z. mobilis* TISTR 1042 มีความเหมาะสมมากกว่าแบคทีเรีย *Z. mobilis* TISTR 548 สำหรับใช้ในการหมักเพื่อผลิตเอทานอลโดยใช้อาหารเลี้ยงเชื้อสูตร cultivation medium ที่มีน้ำตาลกลูโคสเริ่มต้นเท่ากับ 100 กรัมต่อลิตร



ภาพที่ 8 เปรียบเทียบการหมักเพื่อผลิตเอทานอลโดยแบคทีเรีย *Z. mobilis* TISTR 548 และ *Z. mobilis* TISTR 1042 ในอาหารเลี้ยงเชื้อสูตร cultivation medium ที่มีความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคสเริ่มต้นเท่ากับ 100 กรัมต่อลิตร

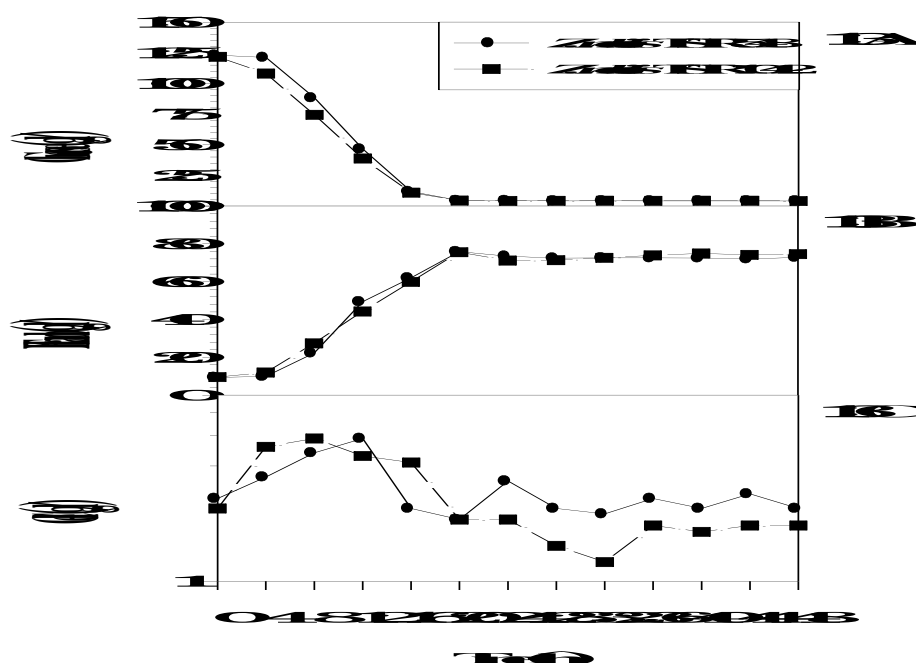
4.1.2.3 ความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคสเริ่มต้นเท่ากับ 150 กรัมต่อลิตร

จากการทดลอง พบว่าแบคทีเรีย *Z. mobilis* ทั้ง 2 สายพันธุ์สามารถใช้น้ำตาลกลูโคสได้อย่างต่อเนื่องภายใน 20 ชั่วโมงแรกของการหมัก (ภาพที่ 9A) ซึ่งหลังจากชั่วโมงที่ 20 พบว่าความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคสจะมีค่าลดลงและมีค่าคงที่ตลอดระยะเวลาของการหมัก ความเข้มข้นต่ำสุดของน้ำตาลกลูโคสที่วัดได้จากการหมักของแบคทีเรีย *Z. mobilis* TISTR 548 และแบคทีเรีย *Z. mobilis* TISTR 1042 มีค่าเท่ากับ 4.43 และ 4.48 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ ที่ระยะเวลาของการหมักเท่ากันคือ 20 ชั่วโมง สำหรับความเข้มข้นของเอทานอลที่ผลิตได้ (ภาพที่ 9B) พบว่าในช่วงระหว่างชั่วโมงที่ 0 ถึงชั่วโมงที่ 4 แบคทีเรีย *Z. mobilis* ทั้ง 2 สายพันธุ์จะผลิตเอทานอลได้ค่อนข้างต่ำ แต่หลังจากชั่วโมงที่ 4 พบว่าการผลิตเอทานอลของแบคทีเรีย *Z. mobilis* ทั้ง 2 สายพันธุ์จะมีค่าเพิ่มสูงขึ้นอย่างต่อเนื่องจนกระทั่งถึงชั่วโมงที่ 20 ซึ่งหลังจากชั่วโมงที่ 20 พบว่าความเข้มข้นของเอทานอลที่ผลิตได้จะมีค่าลดลงเล็กน้อยและมีค่าคงที่ตลอดระยะเวลาของการหมัก สำหรับความเข้มข้นสูงสุดของเอทานอลที่ผลิตได้จากการหมักโดยแบคทีเรีย *Z. mobilis* TISTR 548 และแบคทีเรีย *Z. mobilis* TISTR 1042 มีค่าเท่ากับ 72.85 และ 72.56 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ สำหรับความเข้มข้นของมวลเซลล์ที่ผลิตได้ พบว่าในช่วงระหว่างชั่วโมงที่ 0 ถึงชั่วโมงที่ 4 แบคทีเรีย *Z. mobilis* TISTR 1042 จะมีความเข้มข้นของมวลเซลล์เพิ่มสูงขึ้นอย่างรวดเร็ว และสูงกว่าแบคทีเรีย *Z. mobilis* TISTR 548 ซึ่งหลังจากชั่วโมงที่ 4 พบว่าแบคทีเรีย *Z. mobilis* TISTR 1042 จะมีความเข้มข้นของมวลเซลล์ค่อนข้างคงที่จนกระทั่งถึงชั่วโมงที่ 8 และหลังจากชั่วโมงที่ 8 พบว่าความเข้มข้นของมวลเซลล์จะมีค่าลดลงอย่างต่อเนื่องจนกระทั่งถึงชั่วโมงที่ 32 ซึ่งหลังจากชั่วโมงที่ 32 พบว่าความเข้มข้นของมวลเซลล์จะมีค่าค่อนข้างคงที่จนกระทั่งถึงชั่วโมงที่ 48 สำหรับแบคทีเรีย *Z. mobilis* TISTR 548 พบว่าในช่วงระหว่างชั่วโมงที่ 4

ถึงชั่วโมงที่ 8 ความเข้มข้นของมวลเซลล์จะมีค่าเพิ่มสูงขึ้นมากกว่าในช่วงระหว่างชั่วโมงที่ 0 ถึงชั่วโมงที่ 4 ซึ่งหลังจากชั่วโมงที่ 8 พบว่าความเข้มข้นของมวลเซลล์จะมีค่าเพิ่มสูงขึ้นอีกเพียงเล็กน้อยจนกระทั่งถึงชั่วโมงที่ 12 และหลังจากชั่วโมงที่ 12 พบว่าความเข้มข้นของมวลเซลล์จะมีค่าลดลงและเพิ่มสูงขึ้นตลอดระยะเวลาของการหมัก (ภาพที่ 9C) สำหรับความเข้มข้นสูงสุดของมวลเซลล์ที่ผลิตได้จากการหมักโดยแบคทีเรีย *Z. mobilis* TISTR 548 และ *Z. mobilis* TISTR 1042 มีค่าเท่ากันคือ 3.90 กรัมต่อลิตร

เมื่อเปรียบเทียบค่าพารามิเตอร์จลนพลศาสตร์ที่ได้จากการหมักเพื่อผลิตเอทานอลแบคทีเรีย *Z. mobilis* ทั้ง 2 สายพันธุ์ พบว่าในช่วงระหว่างชั่วโมงที่ 0 ถึงชั่วโมงที่ 4 แบคทีเรีย *Z. mobilis* TISTR 1042 จะมีการเจริญเติบโตอย่างรวดเร็วจนไม่สามารถวัดระยะพักได้ ในขณะที่แบคทีเรีย *Z. mobilis* TISTR 548 จะมีการเจริญเติบโตที่ช้ากว่าและอยู่ในระยะ acceleration phase เมื่อเปรียบเทียบค่าอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ พบว่าแบคทีเรีย *Z. mobilis* TISTR 1042 จะมีค่าเท่ากับ 0.15 ต่อชั่วโมง (คำนวณในช่วงระหว่างชั่วโมงที่ 0 ถึงชั่วโมงที่ 4) สูงกว่าแบคทีเรีย *Z. mobilis* TISTR 548 ซึ่งมีค่าเท่ากับ 0.05 ต่อชั่วโมง (คำนวณในช่วงระหว่างชั่วโมงที่ 4 ถึงชั่วโมงที่ 8) เมื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพของการเปลี่ยนน้ำตาลกลูโคส พบว่าแบคทีเรีย *Z. mobilis* ทั้ง 2 สายพันธุ์จะมีประสิทธิภาพใกล้เคียงกันมาก สำหรับผลได้ของมวลเซลล์ พบว่าแบคทีเรีย *Z. mobilis* ทั้ง 2 สายพันธุ์จะมีค่าเท่ากับ 0.027 กรัมมวลเซลล์ต่อกรัมน้ำตาลกลูโคสที่ถูกใช้ไป แต่เมื่อเปรียบเทียบค่าผลได้ของเอทานอล พบว่าแบคทีเรีย *Z. mobilis* ทั้ง 2 สายพันธุ์จะมีค่าใกล้เคียงกันมากโดยที่แบคทีเรีย *Z. mobilis* TISTR 548 จะมีค่าเท่ากับ 0.501 กรัมเอทานอลต่อกรัมน้ำตาลกลูโคสที่ถูกใช้ไปในขณะที่แบคทีเรีย *Z. mobilis* TISTR 1042 จะมีค่าเท่ากับ 0.499 กรัมเอทานอลต่อกรัมน้ำตาลกลูโคสที่ถูกใช้ไป รวมทั้งจะมีค่าอัตราผลผลิตของเอทานอลใกล้เคียงกันมากโดยที่แบคทีเรีย *Z. mobilis* TISTR 548 จะมีค่าเท่ากับ 3.64 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง ส่วนแบคทีเรีย *Z. mobilis* TISTR 1042 มีค่าเท่ากับ 3.63 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง ถึงแม้ว่าจะมีค่าประสิทธิภาพของผลได้ของเอทานอลแตกต่างกันก็ตาม

จากการเปรียบเทียบค่าพารามิเตอร์จลนพลศาสตร์ที่ได้จากการหมักเพื่อผลิตเอทานอลของแบคทีเรีย *Z. mobilis* ทั้ง 2 สายพันธุ์ พบว่าค่าผลได้ของเอทานอล และค่าอัตราผลผลิตของเอทานอลที่ได้จากการหมักโดยแบคทีเรีย *Z. mobilis* ทั้ง 2 สายพันธุ์ จะมีค่าใกล้เคียงกันมาก รวมทั้งค่าพารามิเตอร์จลนพลศาสตร์อื่น ๆ มีค่าไม่แตกต่างกันอย่างชัดเจน ดังนั้นการเลือกใช้แบคทีเรีย *Z. mobilis* ทั้ง 2 สายพันธุ์สามารถที่จะนำไปใช้ในการหมักเพื่อผลิตเอทานอลได้เช่นเดียวกันโดยใช้อาหารเลี้ยงเชื้อสูตร cultivation medium ที่มีน้ำตาลกลูโคสเริ่มต้นเท่ากับ 150 กรัมต่อลิตร



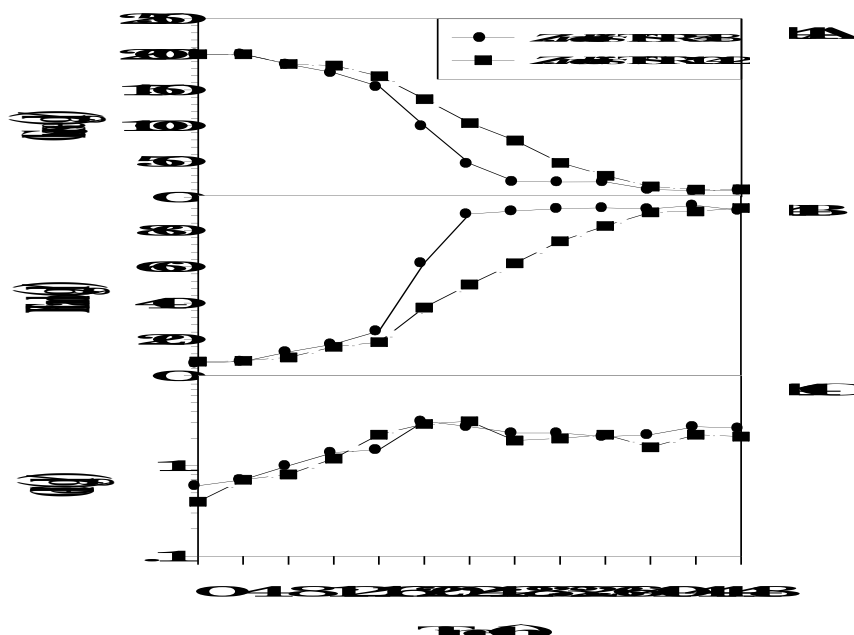
ภาพที่ 9 เปรียบเทียบการหมักเพื่อผลิตเอทานอลโดยแบคทีเรีย *Z. mobilis* TISTR 548 และ *Z. mobilis* TISTR 1042 ในอาหารเลี้ยงเชื้อสูตร cultivation medium ที่มีความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคสเริ่มต้นเท่ากับ 150 กรัมต่อลิตร

4.1.2.4 ความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคสเริ่มต้นเท่ากับ 200 กรัมต่อลิตร

จากการทดลอง พบว่าแบคทีเรีย *Z. mobilis* ทั้ง 2 สายพันธุ์จะมีความสามารถในการใช้น้ำตาลกลูโคสได้แตกต่างกัน โดยที่แบคทีเรีย *Z. mobilis* TISTR 548 สามารถที่จะใช้น้ำตาลกลูโคสได้อย่างรวดเร็วภายใน 28 ชั่วโมงแรกของการหมัก ซึ่งหลังจากชั่วโมงที่ 28 พบว่าความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคสจะมีค่าลดลงเพียงเล็กน้อยจนกระทั่งถึงชั่วโมงที่ 48 สำหรับแบคทีเรีย *Z. mobilis* TISTR 1042 พบว่าจะใช้ระยะเวลาในการใช้น้ำตาลกลูโคสนานมากกว่าแบคทีเรีย *Z. mobilis* TISTR 548 โดยที่ความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคสจะมีค่าลดลงอย่างต่อเนื่องตั้งแต่ชั่วโมงที่ 0 จนกระทั่งถึงชั่วโมงที่ 44 และหลังจากชั่วโมงที่ 44 ถึงชั่วโมงที่ 48 พบว่าจะมีความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคสต่ำสุดและมีค่าคง (ภาพที่ 10A) สำหรับความเข้มข้นต่ำสุดของน้ำตาลกลูโคสที่วัดได้จากการหมักโดยแบคทีเรีย *Z. mobilis* TISTR 548 และแบคทีเรีย *Z. mobilis* TISTR 1042 มีค่าเท่ากับคือ 21.12 และ 10.40 กรัมต่อลิตร ตามลำดับที่ระยะเวลาของการหมัก 36 และ 44 ชั่วโมง ตามลำดับ สำหรับความเข้มข้นของเอทานอลที่ผลิตได้ (ภาพที่ 10B) พบว่าในช่วงระหว่างชั่วโมงที่ 0 ถึงชั่วโมงที่ 16 แบคทีเรีย *Z. mobilis* ทั้ง 2 สายพันธุ์จะผลิตเอทานอลได้ค่อนข้างต่ำซึ่งหลังจากชั่วโมงที่ 16 พบว่าการผลิตเอทานอลโดยแบคทีเรีย *Z. mobilis* TISTR 548 จะเกิดขึ้นอย่างรวดเร็วจนกระทั่งถึงชั่วโมงที่ 24 และหลังจากชั่วโมงที่ 24 พบว่าความเข้มข้นของเอทานอลจะมีค่าเพิ่มสูงขึ้นอีกเพียงเล็กน้อยและมีค่าค่อนข้างคงที่จนกระทั่งถึงชั่วโมงที่ 48 สำหรับแบคทีเรีย *Z. mobilis* TISTR 1042 การผลิตเอทานอลจะเกิดขึ้นอย่างต่อเนื่องโดยมีความเข้มข้นของเอทานอลเพิ่มสูงขึ้นจนกระทั่งถึงชั่วโมงที่ 40 และหลังจากชั่วโมงที่ 40 พบว่าความเข้มข้นของเอทานอลจะมีค่าเพิ่มสูงขึ้นอีกเพียงเล็กน้อยจนกระทั่งถึง

ชั่วโมงที่ 48 สำหรับความเข้มข้นสูงสุดของเอทานอลที่ผลิตได้จากการหมักโดยแบคทีเรีย *Z. mobilis* TISTR 548 และแบคทีเรีย *Z. mobilis* TISTR 1042 มีค่าเท่ากับคือ 90.90 และ 90.40 กรัมต่อลิตร ที่ระยะเวลาของการหมัก 36 และ 44 ชั่วโมงตามลำดับ สำหรับความเข้มข้นของมวลเซลล์ที่ผลิตได้ (ภาพที่ 10C) พบว่าในช่วงระหว่างชั่วโมงที่ 0 ถึงชั่วโมงที่ 8 ความเข้มข้นของมวลเซลล์ของแบคทีเรีย *Z. mobilis* TISTR 548 จะมีค่าเพิ่มสูงขึ้นเพียงเล็กน้อย ในขณะที่แบคทีเรีย *Z. mobilis* TISTR 1042 จะมีความเข้มข้นของมวลเซลล์เพิ่มสูงขึ้นอย่างรวดเร็วในช่วงระหว่างชั่วโมงที่ 0 ถึงชั่วโมงที่ 4 และหลังจากชั่วโมงที่ 4 พบว่าความเข้มข้นของมวลเซลล์จะมีค่าเพิ่มสูงขึ้นอีกเพียงเล็กน้อยจนกระทั่งถึงชั่วโมงที่ 8 ซึ่งหลังจากชั่วโมงที่ 8 พบว่าความเข้มข้นของมวลเซลล์ของแบคทีเรีย *Z. mobilis* ทั้ง 2 สายพันธุ์จะมีความเข้มข้นของมวลเซลล์เพิ่มสูงขึ้นอย่างรวดเร็วจนกระทั่งถึงชั่วโมงที่ 20 และหลังจากชั่วโมงที่ 20 พบว่าความเข้มข้นของมวลเซลล์ของแบคทีเรีย *Z. mobilis* ทั้ง 2 สายพันธุ์มีค่าค่อนข้างคงที่ จนกระทั่งถึงชั่วโมงที่ 48 สำหรับความเข้มข้นสูงสุดของมวลเซลล์ที่ผลิตได้จากการหมักโดยแบคทีเรีย *Z. mobilis* TISTR 548 และแบคทีเรีย *Z. mobilis* TISTR 1042 มีค่าเท่ากับคือ 3.10 กรัมต่อลิตร

เมื่อเปรียบเทียบค่าพารามิเตอร์จลนพลศาสตร์ที่ได้จากการหมักเพื่อผลิตเอทานอลของแบคทีเรีย *Z. mobilis* ทั้ง 2 สายพันธุ์ พบว่าแบคทีเรีย *Z. mobilis* ทั้ง 2 สายพันธุ์จะมีระยะพักตัวประมาณ 4 ชั่วโมง เมื่อเปรียบเทียบค่าอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ พบว่าแบคทีเรีย *Z. mobilis* TISTR 1042 จะมีค่าเท่ากับ 0.13 ต่อชั่วโมง (คำนวณในช่วงระหว่างชั่วโมงที่ 8 ถึงชั่วโมงที่ 16) สูงกว่าแบคทีเรีย *Z. mobilis* TISTR 548 ซึ่งมีค่าเท่ากับ 0.09 ต่อชั่วโมง (คำนวณในช่วงระหว่างชั่วโมงที่ 8 ถึงชั่วโมงที่ 20) เพียงเล็กน้อย



ภาพที่ 10 เปรียบเทียบการหมักเพื่อผลิตเอทานอล โดยแบคทีเรีย *Z. mobilis* TISTR 548 และ *Z. mobilis* TISTR 1042 ในอาหารเลี้ยงเชื้อสูตร cultivation medium ที่มีความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคส เริ่มต้นเท่ากับ 200 กรัมต่อลิตร

เมื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพของการเปลี่ยนน้ำตาลกลูโคส พบว่าแบคทีเรีย *Z. mobilis* TISTR 1042 จะมีค่าสูงกว่าแบคทีเรีย *Z. mobilis* TISTR 548 แต่สำหรับผลได้ของมวลเซลล์ พบว่าแบคทีเรีย *Z. mobilis* TISTR 548 จะมีค่าสูงกว่าแบคทีเรีย *Z. mobilis* TISTR 1042 เมื่อเปรียบเทียบผลได้ของเอทานอล พบว่าแบคทีเรีย *Z. mobilis* TISTR 548 จะมีค่าเท่ากับ 0.508 กรัมเอทานอลต่อกรัมน้ำตาลกลูโคสที่ถูกใช้ไปสูงกว่าแบคทีเรีย *Z. mobilis* TISTR 1042 ซึ่งมีค่าเท่ากับ 0.477 กรัมเอทานอลต่อกรัมน้ำตาลกลูโคสที่ถูกใช้ไป สำหรับอัตราผลผลิตของเอทานอล พบว่าแบคทีเรีย *Z. mobilis* TISTR 548 จะมีค่าเท่ากับ 2.53 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง สูงกว่าแบคทีเรีย *Z. mobilis* TISTR 1042 ซึ่งมีค่าเท่ากับ 2.05 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง

จากการเปรียบเทียบค่าพารามิเตอร์จลนพลศาสตร์ที่ได้จากการหมักเพื่อผลิตเอทานอล พบว่าแบคทีเรีย *Z. mobilis* TISTR 548 จะมีค่าผลได้ของเอทานอลและค่าอัตราผลผลิตของเอทานอลสูงกว่าแบคทีเรีย *Z. mobilis* TISTR 1042 ดังนั้นการเลือกใช้แบคทีเรีย *Z. mobilis* TISTR 548 จึงมีความเหมาะสมมากกว่าแบคทีเรีย *Z. mobilis* TISTR 1042 สำหรับใช้ในการหมักเพื่อผลิตเอทานอลโดยใช้อาหารเลี้ยงเชื้อสูตร cultivation medium ที่มีน้ำตาลกลูโคสเริ่มต้นเท่ากับ 200 กรัมต่อลิตร

จากการศึกษาเปรียบเทียบแบคทีเรีย *Z. mobilis* จำนวน 2 สายพันธุ์ ซึ่งได้แก่แบคทีเรีย *Z. mobilis* TISTR 548 และ *Z. mobilis* TISTR 1042 โดยการศึกษาการเจริญเติบโตในอาหารเลี้ยงเชื้อสูตร yeast extract-peptone glucose พบว่าแบคทีเรีย *Z. mobilis* ทั้ง 2 สายพันธุ์มีการเจริญเติบโตได้ใกล้เคียงกัน เมื่อเปรียบเทียบการหมักเพื่อผลิตเอทานอลในอาหารเลี้ยงเชื้อสูตร cultivation medium ที่มีน้ำตาลกลูโคสเริ่มต้นแตกต่างกัน 4 ระดับ คือ 50 100 150 และ 200 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ เมื่อพิจารณาผลได้ของเอทานอลที่ได้จากการหมักโดยแบคทีเรีย *Z. mobilis* TISTR 548 ที่ความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคสเริ่มต้นเท่ากับ 50 100 150 และ 200 กรัมต่อลิตร จะมีค่าเท่ากับ 0.494 0.443 0.501 และ 0.508 กรัมเอทานอลต่อกรัมน้ำตาลกลูโคสที่ถูกใช้ไปตามลำดับ ส่วนแบคทีเรีย *Z. mobilis* TISTR 1042 จะมีค่าเท่ากับ 0.480 0.450 0.499 และ 0.477 กรัมเอทานอลต่อกรัมน้ำตาลกลูโคสที่ถูกใช้ไปตามลำดับ และเมื่อเปรียบเทียบค่าอัตราผลผลิตของเอทานอลที่ได้จากการหมักโดยแบคทีเรีย *Z. mobilis* TISTR 548 พบว่าจะมีค่าเท่ากับ 2.92 2.13 3.64 และ 2.53 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมงตามลำดับ ส่วนแบคทีเรีย *Z. mobilis* TISTR 1042 จะมีค่าเท่ากับ 2.84 2.73 3.63 และ 2.05 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมงตามลำดับ จากการเปรียบเทียบค่าผลได้ของเอทานอลและอัตราผลผลิตของเอทานอล พบว่าแบคทีเรีย *Z. mobilis* TISTR 548 มีความสามารถในการผลิตเอทานอลได้สูงกว่าแบคทีเรีย *Z. mobilis* TISTR 1042 ทั้งนี้เพราะค่าผลได้ของเอทานอลและค่าอัตราผลผลิตของเอทานอลมีค่าค่อนข้างสูงกว่าแบคทีเรีย *Z. mobilis* TISTR 1042 ถึงแม้จะมีผลได้ของเอทานอลและอัตราผลผลิตของเอทานอลต่ำกว่าแบคทีเรีย *Z. mobilis* TISTR 1042 ที่ความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคสเริ่มต้นเท่ากับ 100 กรัมต่อลิตร แต่เมื่อพิจารณาแนวโน้มในการผลิตเอทานอล พบว่าการเลือกใช้แบคทีเรีย *Z. mobilis* TISTR 548 มีแนวโน้มที่ดีกว่าแบคทีเรีย *Z. mobilis* TISTR 1042 ดังนั้นในการศึกษาขั้นตอนต่อไปจะเลือกใช้เฉพาะแบคทีเรีย *Z. mobilis* TISTR 548 เพียงสายพันธุ์เดียว

4.2 การศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการหมักเพื่อผลิตเอทานอลจากน้ำเชื่อมที่ได้จากการย่อยกากมันสำปะหลังในอาหารเลี้ยงเชื้อสูตรอุดม ดัดแปลงสูตรจากวิธีของ Siva Kesava *et al.* (1995) ในระดับขวดเขย่า ขนาด 500 มิลลิลิตร

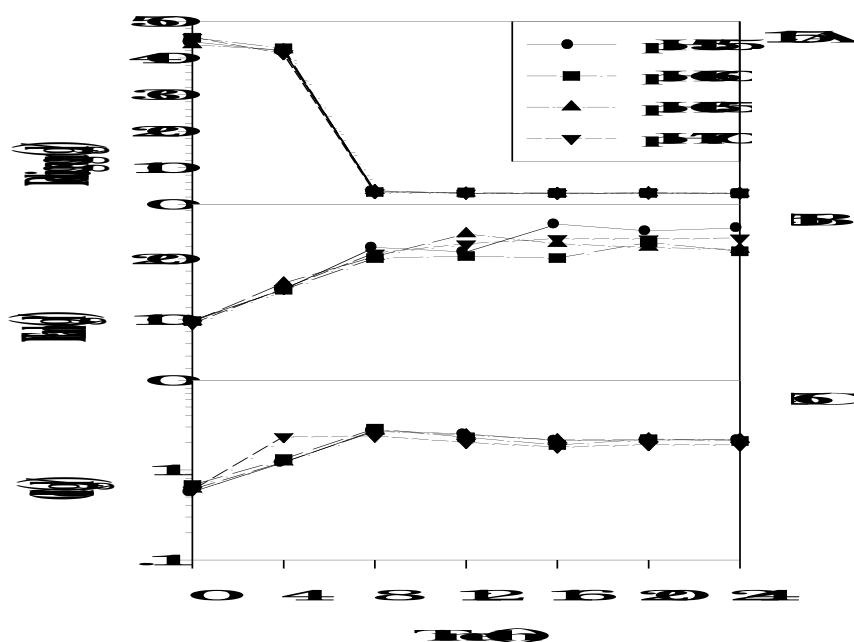
4.2.1 การศึกษาค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เริ่มต้นที่เหมาะสมที่มีน้ำตาลรีดิวซ์เริ่มต้นเท่ากับ 50 กรัมต่อลิตร และอัตราการเขย่า 0 รอบต่อนาที

จากการทดลอง พบว่าแบคทีเรีย *Z. mobilis* TISTR 548 สามารถที่จะใช้น้ำตาลรีดิวซ์ของทุกค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เริ่มต้นได้อย่างรวดเร็วภายใน 8 ชั่วโมงแรกของการหมัก (ภาพที่ 11A) ซึ่งหลังจากชั่วโมงที่ 8 พบว่าทุกค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เริ่มต้นจะมีความเข้มข้นของน้ำตาลรีดิวซ์ลดลงอีกเพียงเล็กน้อยและมีค่าคงที่ตลอดระยะเวลาของการหมัก สำหรับความเข้มข้นต่ำสุดของน้ำตาลรีดิวซ์ที่วัดได้จากการหมักที่ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เริ่มต้นเท่ากับ 5.5 6.0 6.5 และ 7.0 มีค่าเท่ากับ 3.64 3.37 3.71 และ 3.19 กรัมต่อลิตรตามลำดับ ที่ระยะเวลาของการหมักเท่ากันคือ 8 ชั่วโมง สำหรับความเข้มข้นของเอทานอลที่ผลิตได้ พบว่าแบคทีเรีย *Z. mobilis* TISTR 548 สามารถที่จะผลิตเอทานอลได้อย่างต่อเนื่องตั้งแต่ชั่วโมงที่ 0 จนกระทั่งถึงชั่วโมงที่ 8 ของทุกค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เริ่มต้น ซึ่งหลังจากชั่วโมงที่ 8 พบว่าที่ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เริ่มต้นเท่ากับ 5.5 จะมีความเข้มข้นของเอทานอลเพิ่มสูงขึ้นอีกเพียงเล็กน้อย ในขณะที่ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เริ่มต้นอื่น ๆ จะมีค่าค่อนข้างคงที่ตลอดระยะเวลาของการหมัก (ภาพที่ 11B) สำหรับความเข้มข้นสูงสุดของเอทานอลที่ผลิตได้จากการหมักที่ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เริ่มต้นเท่ากับ 5.5 6.0 6.5 และ 7.0 มีค่าเท่ากับ 21.90 20.13 20.38 และ 20.98 กรัมต่อลิตรตามลำดับ สำหรับความเข้มข้นของมวลเซลล์ที่ผลิตได้ พบว่าที่ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เริ่มต้นเท่ากับ 7.0 จะมีความเข้มข้นของมวลเซลล์เพิ่มสูงขึ้นอย่างรวดเร็วภายใน 4 ชั่วโมงแรกของการหมัก (ภาพที่ 11C) ในขณะที่ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เริ่มต้นอื่น ๆ จะมีความเข้มข้นของมวลเซลล์เพิ่มสูงขึ้นอย่างต่อเนื่องภายใน 8 ชั่วโมง ซึ่งหลังจากชั่วโมงที่ 8 พบว่าทุกค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เริ่มต้นจะมีความเข้มข้นของมวลเซลล์ลดลงจนกระทั่งถึงชั่วโมงที่ 16 และหลังจากชั่วโมงที่ 16 พบว่า จะมีความเข้มข้นของมวลเซลล์คงที่ตลอดระยะเวลาของการหมัก สำหรับความเข้มข้นสูงสุดของมวลเซลล์ที่ผลิตได้จากการหมักที่ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เริ่มต้นเท่ากับ 5.5 6.0 6.5 และ 7.0 มีค่าเท่ากับ 2.74 2.87 2.68 และ 2.38 กรัมต่อลิตรตามลำดับ

เมื่อเปรียบเทียบค่าพารามิเตอร์จลนพลศาสตร์ที่ได้จากการหมักเพื่อผลิตเอทานอล พบว่าแบคทีเรีย *Z. mobilis* TISTR 548 จะมีการเจริญเติบโตอย่างรวดเร็วภายใน 4 ชั่วโมงแรกของการหมักที่ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เริ่มต้นเท่ากับ 7.0 ในขณะที่ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เริ่มต้นอื่น ๆ จะมีการเจริญเติบโตอย่างรวดเร็วภายใน 8 ชั่วโมง ซึ่งพบว่าแบคทีเรียจะไม่มีระยะพักตัว เมื่อเปรียบเทียบค่าอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ พบว่าที่ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เริ่มต้นเท่ากับ 7.0 จะมีค่าสูงที่สุดคือ 0.29 ต่อชั่วโมง (คำนวณในช่วงระหว่างชั่วโมงที่ 0 ถึงชั่วโมงที่ 4) เมื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพของการเปลี่ยนน้ำตาลรีดิวซ์ พบว่าที่ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เริ่มต้นเท่ากับ 7.0 จะมีค่าสูงที่สุดคือร้อยละ 93.62 ของน้ำตาลรีดิวซ์เริ่มต้น สำหรับผลได้ของมวลเซลล์ พบว่าที่ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เริ่มต้นเท่ากับ 5.5 6.0 และ 6.5 จะมีค่าใกล้เคียงกันซึ่งมีค่าเท่ากับ 0.059 0.062 และ 0.058 กรัมมวลเซลล์ต่อกรัมน้ำตาลรีดิวซ์ที่ถูกใช้ไปตามลำดับ ส่วนที่ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เริ่มต้นเท่ากับ 7.0 จะมีค่าต่ำสุดคือ 0.051 กรัมมวลเซลล์ต่อกรัมน้ำตาลรีดิวซ์ที่ถูกใช้ไป เมื่อเปรียบเทียบผลได้ของเอทานอล พบว่าที่ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เริ่มต้นเท่ากับ 5.5 จะมีค่า

สูงที่สุดคือ 0.472 กรัมเอทานอลต่อกรัมน้ำตาลรีดิวซ์ที่ถูกใช้ไป สำหรับค่าอัตราผลผลิตของเอทานอล พบว่าที่ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เริ่มต้นเท่ากับ 5.5 จะมีค่าสูงที่สุดคือ 2.74 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง

จากการเปรียบเทียบค่าพารามิเตอร์จลนพลศาสตร์ที่ได้จากการหมักเพื่อผลิตเอทานอล พบว่าที่ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เริ่มต้นเท่ากับ 5.5 แบคทีเรีย *Z. mobilis* TISTR 548 จะมีค่าผลได้ของเอทานอล และค่าอัตราผลผลิตของเอทานอลสูงกว่าที่ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เริ่มต้นอื่น ๆ ดังนั้นจึงเป็นค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เริ่มต้นที่เหมาะสมสำหรับนำมาใช้ในการหมักเพื่อผลิตเอทานอลที่มีน้ำตาลรีดิวซ์เริ่มต้นเท่ากับ 50 กรัมต่อลิตร และที่อัตราการเขย่าเท่ากับ 0 รอบต่อนาที



ภาพที่ 11 เปรียบเทียบการหมักเพื่อผลิตเอทานอลโดยแบคทีเรีย *Z. mobilis* TISTR 548 ในอาหารเลี้ยงเชื้อสูตรอุดม ที่มีน้ำตาลรีดิวซ์เริ่มต้นเท่ากับ 50 กรัมต่อลิตร ที่ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เริ่มต้น 5.5 6.0 6.5 และ 7.0 ที่อัตราการเขย่า 0 รอบต่อนาที

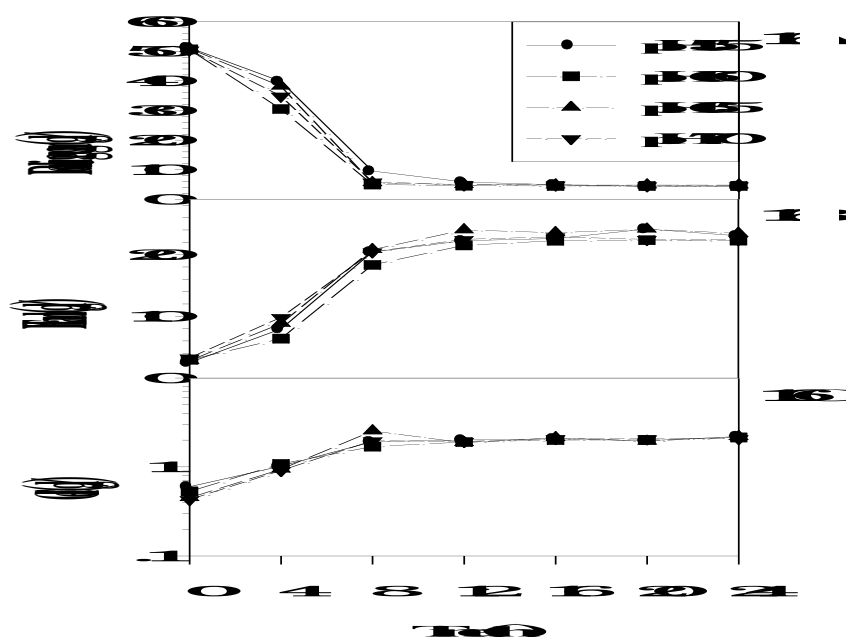
4.2.2 การศึกษาค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เริ่มต้นที่เหมาะสมที่มีน้ำตาลรีดิวซ์เริ่มต้นเท่ากับ 50 กรัมต่อลิตร และอัตราการเขย่า 100 รอบต่อนาที

จากการทดลอง พบว่าแบคทีเรีย *Z. mobilis* TISTR 548 สามารถที่จะใช้น้ำตาลรีดิวซ์ของทุกค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เริ่มต้นได้อย่างรวดเร็วภายใน 8 ชั่วโมงแรกของการหมัก (ภาพที่ 12A) และหลังจากชั่วโมงที่ 8 พบว่าความเข้มข้นของน้ำตาลรีดิวซ์จะมีค่าลดลงเพียงเล็กน้อยและมีค่าคงที่ตลอดระยะเวลาของการหมัก สำหรับความเข้มข้นต่ำสุดของน้ำตาลรีดิวซ์ที่วัดได้จากการหมักที่ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เริ่มต้นเท่ากับ 5.5 6.0 6.5 และ 7.0 มีค่าเท่ากับ 9.55 5.00 5.56 และ 5.88 กรัมต่อลิตรตามลำดับ ที่ระยะเวลาของการหมักเท่ากันคือ 8 ชั่วโมง สำหรับความเข้มข้นของเอทานอลที่ผลิตได้ พบว่าแบคทีเรีย *Z. mobilis* TISTR 548 สามารถที่จะผลิตเอทานอลได้อย่างต่อเนื่องตั้งแต่ชั่วโมงที่ 0 จนกระทั่งถึงชั่วโมงที่ 8 ของทุกค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เริ่มต้น ซึ่งหลังจากชั่วโมงที่ 8 พบว่าความเข้มข้นของเอทานอลจะมีค่าคงที่ตลอดระยะเวลาของการหมัก (ภาพที่ 12B) สำหรับความ

เข้มข้นสูงสุดของเอทานอลที่ผลิตได้จากการหมักที่ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เริ่มต้นเท่ากับ 5.5 6.0 6.5 และ 7.0 มีค่าเท่ากับ 20.43 18.33 20.80 และ 20.46 กรัมต่อลิตรตามลำดับ สำหรับความเข้มข้นของมวลเซลล์ที่ผลิตได้พบว่าทุกค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เริ่มต้นจะมีความเข้มข้นของมวลเซลล์เพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่องภายใน 8 ชั่วโมงแรกของการหมัก (ภาพที่ 12C) ซึ่งหลังจากชั่วโมงที่ 8 พบว่าทุกค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เริ่มต้นจะมีค่าคงที่และไม่เปลี่ยนแปลงตลอดระยะเวลาของการหมัก ความเข้มข้นสูงสุดของมวลเซลล์ที่ผลิตได้จากการหมักที่ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เริ่มต้นเท่ากับ 5.5 6.0 6.5 และ 7.0 มีค่าเท่ากับ 1.92 1.69 2.53 และ 1.97 กรัมต่อลิตรตามลำดับ

เมื่อเปรียบเทียบค่าพารามิเตอร์จลนพลศาสตร์ที่ได้จากการหมักเพื่อผลิตเอทานอล พบว่าแบคทีเรีย *Z. mobilis* TISTR 548 จะมีการเจริญเติบโตอย่างรวดเร็วในช่วงระหว่างชั่วโมงที่ 0 ถึง 8 โดยไม่พบระยะพักตัวของแบคทีเรีย เมื่อเปรียบเทียบค่าอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ พบว่าที่ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เริ่มต้นเท่ากับ 6.5 จะมีค่าสูงที่สุดคือ 0.22 ต่อชั่วโมง (คำนวณในช่วงระหว่างชั่วโมงที่ 0 ถึงชั่วโมงที่ 8) สูงกว่าที่ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เริ่มต้นเท่ากับ 7.0 6.0 และ 5.5 ซึ่งมีค่าเท่ากับ 0.19 0.15 และ 0.16 ต่อชั่วโมงตามลำดับ (ทั้ง 3 ค่าคำนวณในช่วงระหว่างชั่วโมงที่ 0 ถึงชั่วโมงที่ 8) เมื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพของการเปลี่ยนน้ำตาลรีดิวซ์ พบว่าที่ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เริ่มต้นเท่ากับ 6.0 จะให้ค่าสูงที่สุดคือร้อยละ 90.00 ของน้ำตาลรีดิวซ์เริ่มต้น สำหรับผลได้ของมวลเซลล์ พบว่าที่ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เริ่มต้นเท่ากับ 6.5 จะมีค่าสูงที่สุดคือ 0.057 กรัมมวลเซลล์ต่อกรัมน้ำตาลรีดิวซ์ที่ถูกใช้ไป ในขณะที่ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เริ่มต้นอื่น ๆ จะมีค่าระหว่าง 0.038-0.048 กรัมมวลเซลล์ต่อกรัมน้ำตาลรีดิวซ์ที่ถูกใช้ไป เมื่อเปรียบเทียบผลได้ของเอทานอล พบว่าที่ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เริ่มต้นเท่ากับ 5.5 จะมีค่าสูงที่สุดคือ 0.505 กรัมเอทานอลต่อกรัมน้ำตาลรีดิวซ์ที่ถูกใช้ไป ส่วนที่ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เริ่มต้นอื่น ๆ จะมีค่าระหว่าง 0.407-0.468 กรัมเอทานอลต่อกรัมน้ำตาลรีดิวซ์ที่ถูกใช้ไป เมื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพของผลได้ของเอทานอล พบว่าที่ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เริ่มต้นเท่ากับ 5.5 จะมีค่าสูงที่สุดคือร้อยละ 99.02 ของค่าที่ได้ตามทฤษฎี แต่สำหรับที่ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เริ่มต้นอื่น ๆ จะมีค่าระหว่างร้อยละ 79.80-91.76 ของค่าที่ได้ตามทฤษฎี สำหรับค่าอัตราผลผลิตของเอทานอล พบว่าที่ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เริ่มต้นเท่ากับ 6.5 จะมีค่าสูงที่สุดคือ 2.60 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง ซึ่งสูงกว่าที่ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เริ่มต้นเท่ากับ 5.5 และ 7.0 เพียงเล็กน้อย ในขณะที่ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เริ่มต้นเท่ากับ 6.0 จะมีค่าต่ำที่สุดคือ 1.92 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง

จากการเปรียบเทียบค่าพารามิเตอร์จลนพลศาสตร์ที่ได้จากการหมักเพื่อผลิตเอทานอล พบว่าที่ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เริ่มต้นเท่ากับ 5.5 แบคทีเรีย *Z. mobilis* TISTR 548 จะมีค่าผลได้ของเอทานอลสูงกว่าที่ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เริ่มต้นอื่น ๆ และมีค่าอัตราผลผลิตของเอทานอลมากเพียงพอ ซึ่งมีค่าต่ำกว่าค่าสูงที่สุดเพียงเล็กน้อย ดังนั้นการเลือกใช้ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เริ่มต้นเท่ากับ 5.5 จึงมีความเหมาะสมที่สุดสำหรับใช้ในการหมักเพื่อผลิตเอทานอลที่มีน้ำตาลรีดิวซ์เริ่มต้นเท่ากับ 50 กรัมต่อลิตร และที่อัตราการเขย่าเท่ากับ 100 รอบต่อนาที

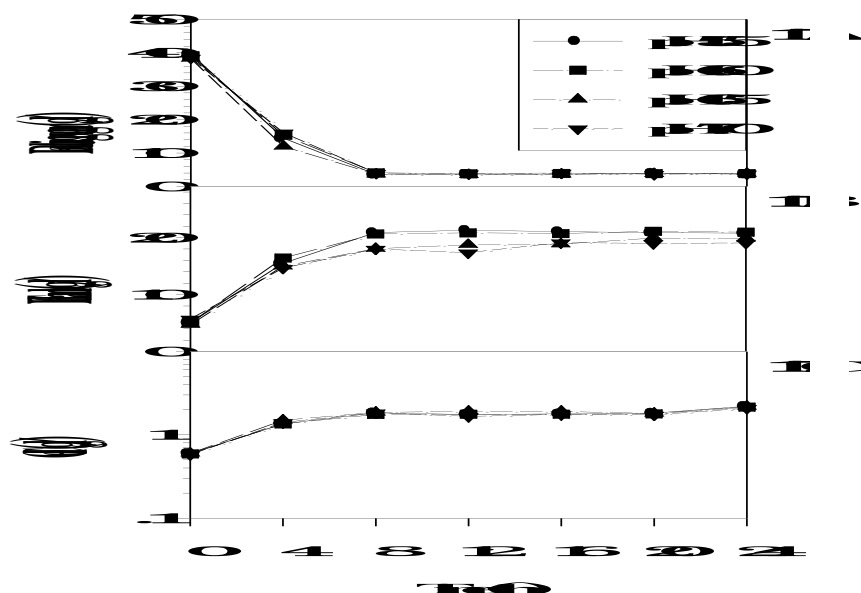


ภาพที่ 12 เปรียบเทียบการหมักเพื่อผลิตเอทานอลโดยแบคทีเรีย *Z. mobilis* TISTR 548 ในอาหารเลี้ยงเชื้อสูตรอุดม ที่มีน้ำตาลรีดิวซ์เริ่มต้นเท่ากับ 50 กรัมต่อลิตร ที่ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เริ่มต้น 5.5 6.0 6.5 และ 7.0 ที่อัตราการเขย่า 100 รอบต่อนาที

4.2.3 การศึกษาค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เริ่มต้นที่เหมาะสมที่มีน้ำตาลรีดิวซ์เริ่มต้นเท่ากับ 50 กรัมต่อลิตร และอัตราการเขย่า 200 รอบต่อนาที

จากการทดลอง พบว่าแบคทีเรีย *Z. mobilis* TISTR 548 สามารถที่จะใช้น้ำตาลรีดิวซ์ของทุกค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เริ่มต้นได้อย่างรวดเร็วภายใน 8 ชั่วโมงแรกของการหมัก (ภาพที่ 13A) และหลังจากชั่วโมงที่ 8 พบว่าความเข้มข้นของน้ำตาลรีดิวซ์จะมีค่าลดลงเพียงเล็กน้อยและมีค่าคงที่ตลอดระยะเวลาของการหมัก สำหรับความเข้มข้นต่ำสุดของน้ำตาลรีดิวซ์ที่วัดได้จากการหมักที่ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เริ่มต้นเท่ากับ 5.5 6.0 6.5 และ 7.0 มีค่าเท่ากับ 3.56 4.06 3.61 และ 3.97 กรัมต่อลิตรตามลำดับ ที่ระยะเวลาของการหมักเท่ากันคือ 8 ชั่วโมง สำหรับความเข้มข้นของเอทานอลที่ผลิตได้ พบว่าแบคทีเรีย *Z. mobilis* TISTR 548 สามารถที่จะผลิตเอทานอลได้อย่างต่อเนื่องตั้งแต่ชั่วโมงที่ 0 จนกระทั่งถึงชั่วโมงที่ 8 ของทุกค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เริ่มต้น ซึ่งหลังจากชั่วโมงที่ 8 พบว่าทุกค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เริ่มต้นจะมีค่าความเข้มข้นของเอทานอลค่อนข้างคงที่ตลอดระยะเวลาของการหมัก (ภาพที่ 13B) สำหรับความเข้มข้นสูงสุดของเอทานอลที่ผลิตได้จากการหมักที่ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เริ่มต้นเท่ากับ 5.5 6.0 6.5 และ 7.0 มีค่าเท่ากับ 20.89 20.64 18.05 และ 18.00 กรัมต่อลิตรตามลำดับ สำหรับความเข้มข้นของมวลเซลล์ที่ผลิตได้ พบว่าทุกค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เริ่มต้นจะมีความเข้มข้นของมวลเซลล์เพิ่มสูงขึ้นอย่างต่อเนื่องภายใน 8 ชั่วโมงแรกของการหมัก (ภาพที่ 13C) ซึ่งหลังจากชั่วโมงที่ 8 พบว่าทุกค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เริ่มต้นจะมีความเข้มข้นของมวลเซลล์คงที่และไม่เปลี่ยนแปลงตลอดระยะเวลาของการหมัก สำหรับความเข้มข้นสูงสุดของมวลเซลล์ที่ผลิตได้จากการหมักที่ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เริ่มต้นเท่ากับ 5.5 6.0 6.5 และ 7.0 มีค่าเท่ากับ 1.83 1.75 1.85 และ 1.84 กรัมต่อลิตรตามลำดับ

เมื่อเปรียบเทียบค่าพารามิเตอร์จลนพลศาสตร์ที่ได้จากการหมักเพื่อผลิตเอทานอล พบว่าแบคทีเรีย *Z. mobilis* TISTR 548 จะมีการเจริญเติบโตอย่างรวดเร็วในช่วงระหว่างชั่วโมงที่ 0 ถึงชั่วโมงที่ 4 โดยไม่พบระยะพักตัวของแบคทีเรีย เมื่อเปรียบเทียบค่าอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ พบว่าที่ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เริ่มต้นเท่ากับ 6.5 จะมีค่าเท่ากับ 0.23 ต่อชั่วโมง สูงกว่าที่ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เริ่มต้นเท่ากับ 7.0 6.0 และ 5.5 ซึ่งมีค่าเท่ากับ 0.22 0.20 และ 0.20 ต่อชั่วโมง (ทั้ง 4 ค่าคำนวณในช่วงระหว่างชั่วโมงที่ 0 ถึงชั่วโมงที่ 4) ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพของการเปลี่ยนน้ำตาลรีดิวซ์ พบว่าที่ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เริ่มต้นเท่ากับ 5.5 จะค่าสูงที่สุดคือร้อยละ 92.88 ของน้ำตาลรีดิวซ์เริ่มต้น สำหรับที่ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เริ่มต้นอื่น ๆ จะมีค่าระหว่างร้อยละ 91.88-92.78 ของน้ำตาลรีดิวซ์เริ่มต้น สำหรับผลได้ของมวลเซลล์ พบว่าที่ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เริ่มต้นเท่ากับ 6.5 และ 7.0 จะมีค่าเท่ากันและมีค่าสูงที่สุดคือ 0.040 กรัมมวลเซลล์ต่อกรัมน้ำตาลรีดิวซ์ที่ถูกใช้ไป ในขณะที่ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เริ่มต้นอื่น ๆ จะมีค่ามากกว่าระหว่าง 0.038-0.039 กรัมมวลเซลล์ต่อกรัมน้ำตาลรีดิวซ์ที่ถูกใช้ไป เมื่อเปรียบเทียบผลได้ของเอทานอล พบว่าที่ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เริ่มต้นเท่ากับ 5.5 และ 6.0 มีค่าเท่ากันและมีค่าสูงที่สุดคือ 0.450 กรัมเอทานอลต่อกรัมน้ำตาลรีดิวซ์ที่ถูกใช้ไป ส่วนที่ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เริ่มต้นอื่น ๆ จะมีค่าระหว่าง 0.389-0.391 กรัมเอทานอลต่อกรัมน้ำตาลรีดิวซ์ที่ถูกใช้ไป เมื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพของผลได้ของเอทานอล พบว่าที่ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เริ่มต้นเท่ากับ 5.5 และ 6.0 จะมีค่าเท่ากันและมีค่าสูงที่สุดคือร้อยละ 88.22 ของค่าที่ได้ตามทฤษฎี สำหรับที่ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เริ่มต้นอื่น ๆ จะมีค่าระหว่าง 76.27-76.67 ของค่าที่ได้ตามทฤษฎี สำหรับค่าอัตราผลผลิตของเอทานอล พบว่าที่ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เริ่มต้นเท่ากับ 5.5 จะมีค่าสูงที่สุดคือ 2.61 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง ซึ่งสูงกว่าที่ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เริ่มต้นเท่ากับ 6.0 เพียงเล็กน้อย ในขณะที่ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เริ่มต้นเท่ากับ 6.5 และ 7.0 จะมีค่าใกล้เคียงกันคือ 2.25 และ 2.26 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมงตามลำดับ



ภาพที่ 13 เปรียบเทียบการหมักเพื่อผลิตเอทานอล โดยแบคทีเรีย *Z. mobilis* TISTR 548 ในอาหารเลี้ยงเชื้อสูตรอุดม ที่มีน้ำตาลรีดิวซ์เริ่มต้นเท่ากับ 50 กรัมต่อลิตร ที่ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เริ่มต้น 5.5 6.0 6.5 และ 7.0 ที่อัตราการเขย่า 200 รอบต่อนาที

จากการเปรียบเทียบค่าพารามิเตอร์จลนพลศาสตร์ที่ได้จากการหมักเพื่อผลิตเอทานอล พบว่าที่ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เริ่มต้นเท่ากับ 5.5 และ 6.0 แบคทีเรีย *Z. mobilis* TISTR 548 จะมีค่าผลได้ของเอทานอลเท่ากัน และมีค่าอัตราผลผลิตของเอทานอลที่ใกล้เคียงกันมาก ดังนั้นการเลือกใช้ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เริ่มต้นเท่ากับ 5.5 และ 6.0 จึงมีความเหมาะสมที่สุด สำหรับใช้ในการหมักเพื่อผลิตเอทานอลที่มีน้ำตาลรีดิวซ์เริ่มต้นเท่ากับ 50 กรัมต่อลิตร และที่อัตราการเขย่าเท่ากับ 200 รอบต่อนาที

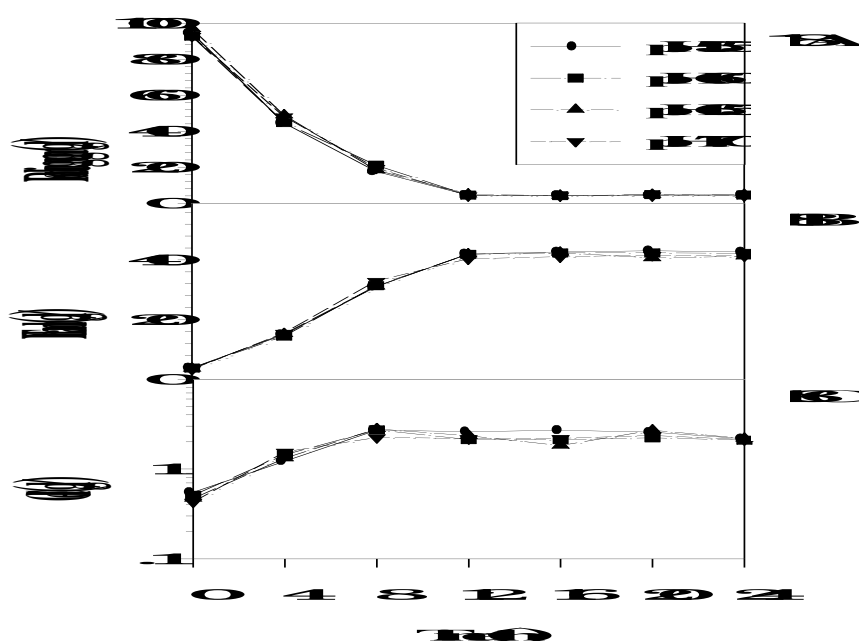
4.2.4 การศึกษาค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เริ่มต้นที่เหมาะสมที่มีน้ำตาลรีดิวซ์เริ่มต้นเท่ากับ 100 กรัมต่อลิตร และอัตราการเขย่า 0 รอบต่อนาที

จากการทดลอง พบว่าแบคทีเรีย *Z. mobilis* TISTR 548 สามารถที่จะใช้น้ำตาลรีดิวซ์ของทุกค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เริ่มต้นได้อย่างรวดเร็วภายใน 12 ชั่วโมงแรกของการหมัก (ภาพที่ 14A) และหลังจากชั่วโมงที่ 12 พบว่าความเข้มข้นของน้ำตาลรีดิวซ์จะมีค่าลดลงเพียงเล็กน้อยและมีค่าคงที่ตลอดระยะเวลาของการหมัก สำหรับความเข้มข้นต่ำสุดของน้ำตาลรีดิวซ์ที่วัดได้จากการหมักที่ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เริ่มต้นเท่ากับ 5.5 6.0 6.5 และ 7.0 มีค่าเท่ากับ 4.41 4.41 4.86 และ 4.21 กรัมต่อลิตรตามลำดับ ที่ระยะเวลาของการหมักเท่ากันคือ 12 ชั่วโมง สำหรับความเข้มข้นของเอทานอลที่ผลิตได้ พบว่าแบคทีเรีย *Z. mobilis* TISTR 548 สามารถที่จะผลิตเอทานอลได้อย่างต่อเนื่องตั้งแต่ชั่วโมงที่ 0 จนกระทั่งถึงชั่วโมงที่ 12 ของทุกค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เริ่มต้น ซึ่งหลังจากชั่วโมงที่ 12 พบว่าทุกค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เริ่มต้นจะมีค่าความเข้มข้นของเอทานอลค่อนข้างคงที่ตลอดระยะเวลาของการหมัก (ภาพที่ 14B) สำหรับความเข้มข้นสูงสุดของเอทานอลที่ผลิตได้จากการหมักที่ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เริ่มต้นเท่ากับ 5.5 6.0 6.5 และ 7.0 มีค่าเท่ากับ 42.02 41.88 41.90 และ 40.38 กรัมต่อลิตรตามลำดับ สำหรับความเข้มข้นของมวลเซลล์ที่ผลิตได้ พบว่าทุกค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เริ่มต้นจะมีความเข้มข้นของมวลเซลล์เพิ่มสูงขึ้นอย่างต่อเนื่องภายใน 8 ชั่วโมงแรกของการหมัก (ภาพที่ 14C) ซึ่งหลังจากชั่วโมงที่ 8 พบว่าทุกค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เริ่มต้นจะมีค่าคงที่และไม่เปลี่ยนแปลงตลอดระยะเวลาของการหมัก ความเข้มข้นสูงสุดของมวลเซลล์ที่ผลิตได้จากการหมักที่ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เริ่มต้นเท่ากับ 5.5 6.0 6.5 และ 7.0 มีค่าเท่ากับ 2.71 2.72 2.79 และ 2.24 กรัมต่อลิตรตามลำดับ

เมื่อเปรียบเทียบค่าพารามิเตอร์จลนพลศาสตร์ที่ได้จากการหมักเพื่อผลิตเอทานอล พบว่าแบคทีเรีย *Z. mobilis* TISTR 548 จะมีการเจริญเติบโตอย่างรวดเร็วในช่วงระหว่างชั่วโมงที่ 0 ถึงชั่วโมงที่ 8 โดยไม่พบระยะพักตัวของแบคทีเรีย เมื่อเปรียบค่าอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ พบว่าที่ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เริ่มต้นเท่ากับ 6.5 จะมีค่าเท่ากับ 0.22 ต่อชั่วโมง สูงกว่าที่ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เริ่มต้นเท่ากับ 7.0 6.0 และ 5.5 ซึ่งมีค่าเท่ากับ 0.21 0.21 และ 0.20 ต่อชั่วโมง (ทั้ง 4 ค่าคำนวณในช่วงระหว่างชั่วโมงที่ 0 ถึงชั่วโมงที่ 8) ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพของการเปลี่ยนน้ำตาลรีดิวซ์ พบว่าที่ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เริ่มต้นเท่ากับ 7.0 จะมีค่าสูงที่สุดคือร้อยละ 95.79 ของน้ำตาลรีดิวซ์เริ่มต้น ในขณะที่ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เริ่มต้นอื่น ๆ จะมีค่าระหว่างร้อยละ 95.14-95.59 ของน้ำตาลรีดิวซ์เริ่มต้น สำหรับผลได้ของมวลเซลล์ พบว่าที่ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เริ่มต้นเท่ากับ 5.5 6.0 และ 6.5 จะมีค่าใกล้เคียงกันมากซึ่งมีค่าระหว่าง 0.028-0.029 กรัมมวลเซลล์ต่อกรัม น้ำตาลรีดิวซ์ที่ถูกใช้ไป ในขณะที่ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เริ่มต้นเท่ากับ 7.0 จะมีค่าต่ำสุดคือ 0.023 กรัมมวลเซลล์ต่อกรัม น้ำตาลรีดิวซ์ที่ถูกใช้ไป เมื่อเปรียบเทียบผลได้ของเอทานอล พบว่าที่ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เริ่มต้น

เท่ากับ 5.5 และ 6.5 จะมีค่าเท่ากันและมีค่าสูงที่สุดคือ 0.440 กรัมเอทานอลต่อกรัมน้ำตาลรีดิวซ์ที่ถูกใช้ไป และมีค่าใกล้เคียงกับค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เริ่มต้นเท่ากับ 6.0 ที่มีค่าเท่ากับ 0.438 กรัมเอทานอลต่อกรัมน้ำตาลรีดิวซ์ที่ถูกใช้ไป สำหรับที่ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เริ่มต้นเท่ากับ 7.0 จะมีค่าต่ำที่สุดซึ่งมีค่าเท่ากับ 0.422 กรัมเอทานอลต่อกรัมน้ำตาลรีดิวซ์ที่ถูกใช้ไป เมื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพของผลได้ของเอทานอล พบว่าที่ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เริ่มต้นเท่ากับ 5.5 และ 6.5 จะมีค่าเท่ากันและมีค่าสูงที่สุดคือร้อยละ 86.28 ของค่าที่ได้ตามทฤษฎีสำหรับค่าอัตราผลผลิตของเอทานอล พบว่าที่ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เริ่มต้นเท่ากับ 5.5 6.0 และ 6.5 จะมีค่าใกล้เคียงกันมากซึ่งมีค่าระหว่าง 3.49-3.50 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง ซึ่งสูงกว่าที่ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เริ่มต้นเท่ากับ 7.0 ที่มีค่าต่ำสุดคือ 3.37 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง

จากการเปรียบเทียบค่าพารามิเตอร์จลนพลศาสตร์ที่ได้จากการหมักเพื่อผลิตเอทานอล พบว่าที่ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เริ่มต้นเท่ากับ 5.5 6.0 และ 6.5 แบคทีเรีย *Z. mobilis* TISTR 548 จะมีค่าผลได้ของเอทานอลและค่าอัตราผลผลิตของเอทานอลที่ใกล้เคียงกันมาก ดังนั้นการเลือกใช้ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เริ่มต้นเท่ากับ 5.5 6.0 หรือ 6.5 จึงมีความเหมาะสมที่สุดสำหรับใช้ในการหมักเพื่อผลิตเอทานอลที่มีน้ำตาลรีดิวซ์เริ่มต้นเท่ากับ 100 กรัมต่อลิตร และที่อัตราการเขย่าเท่ากับ 0 รอบต่อนาที



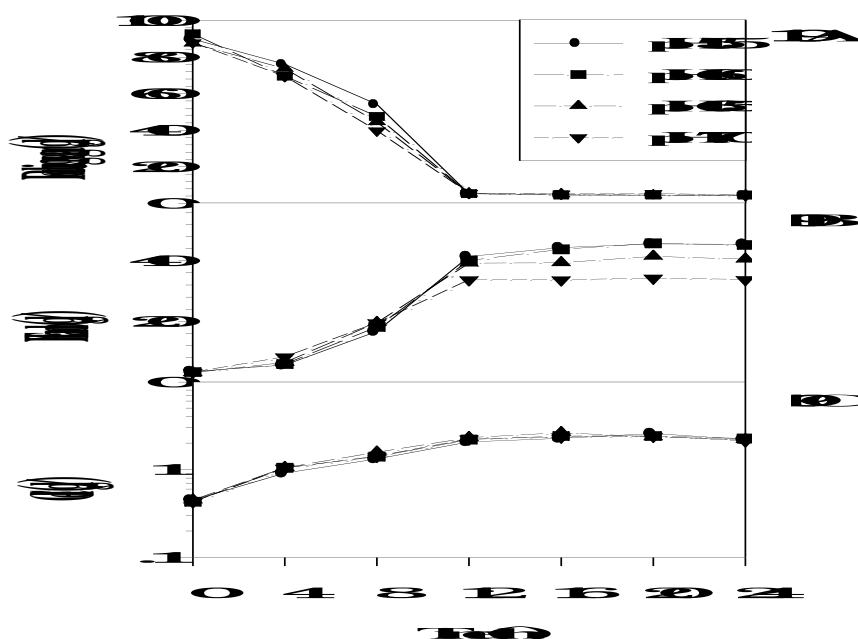
ภาพที่ 14 เปรียบเทียบการหมักเพื่อผลิตเอทานอลโดยแบคทีเรีย *Z. mobilis* TISTR 548 ในอาหารเลี้ยงเชื้อสูตรอุดม ที่มีน้ำตาลรีดิวซ์เริ่มต้นเท่ากับ 100 กรัมต่อลิตร ที่ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เริ่มต้น 5.5 6.0 6.5 และ 7.0 ที่อัตราการเขย่า 0 รอบต่อนาที

4.2.5 การศึกษาค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เริ่มต้นที่เหมาะสมที่มีน้ำตาลรีดิวซ์เริ่มต้นเท่ากับ 100 กรัมต่อลิตร และอัตราการเขย่า 100 รอบต่อนาที

จากการทดลอง พบว่าแบคทีเรีย *Z. mobilis* TISTR 548 สามารถที่จะใช้น้ำตาลรีดิวซ์ของทุกค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เริ่มต้นได้อย่างรวดเร็วภายใน 12 ชั่วโมงแรกของการหมัก (ภาพที่ 15A) และหลังจากชั่วโมงที่ 12 พบว่าความเข้มข้นของน้ำตาลรีดิวซ์จะมีค่าลดลงเพียงเล็กน้อยและมีค่าคงที่ตลอดระยะเวลาของการหมัก สำหรับความเข้มข้นต่ำสุดของน้ำตาลรีดิวซ์ที่วัดได้จากการหมักที่ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เริ่มต้นเท่ากับ 5.5 6.0 6.5 และ 7.0 มีค่าเท่ากับ 5.24 5.33 5.42 และ 5.56 กรัมต่อลิตรตามลำดับ ที่ระยะเวลาของการหมักเท่ากันคือ 12 ชั่วโมง สำหรับความเข้มข้นของเอทานอลที่ผลิตได้ พบว่าแบคทีเรีย *Z. mobilis* TISTR 548 สามารถที่จะผลิตเอทานอลได้อย่างต่อเนื่องตั้งแต่ชั่วโมงที่ 0 จนกระทั่งถึงชั่วโมงที่ 12 ของทุกค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เริ่มต้น ซึ่งหลังจากชั่วโมงที่ 12 พบว่าทุกค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เริ่มต้นจะมีความเข้มข้นของเอทานอลค่อนข้างคงที่ตลอดระยะเวลาของการหมัก (ภาพที่ 15B) สำหรับความเข้มข้นสูงสุดของเอทานอลที่ผลิตได้จากการหมักที่ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เริ่มต้นเท่ากับ 5.5 6.0 6.5 และ 7.0 มีค่าเท่ากับ 41.39 40.07 39.21 และ 33.73 กรัมต่อลิตรตามลำดับ สำหรับความเข้มข้นของมวลเซลล์ที่ผลิตได้ พบว่าทุกค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เริ่มต้นจะมีความเข้มข้นของมวลเซลล์เพิ่มสูงขึ้นอย่างต่อเนื่องภายใน 12 ชั่วโมงแรกของการหมัก (ภาพที่ 15C) ซึ่งหลังจากชั่วโมงที่ 12 พบว่าทุกค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เริ่มต้นจะมีความเข้มข้นของมวลเซลล์คงที่และไม่เปลี่ยนแปลงตลอดระยะเวลาของการหมัก ความเข้มข้นสูงสุดของมวลเซลล์ที่ผลิตได้จากการหมักที่ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เริ่มต้นเท่ากับ 5.5 6.0 6.5 และ 7.0 มีค่าเท่ากับ 2.06 2.19 2.30 และ 2.23 กรัมต่อลิตรตามลำดับ

เมื่อเปรียบเทียบค่าพารามิเตอร์จลนพลศาสตร์ที่ได้จากการหมักเพื่อผลิตเอทานอล พบว่าแบคทีเรีย *Z. mobilis* TISTR 548 จะมีการเจริญเติบโตอย่างรวดเร็วภายใน 4 ชั่วโมงแรกของการหมัก โดยไม่พบระยะพักตัวของแบคทีเรีย เมื่อเปรียบค่าอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ พบว่าที่ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เริ่มต้นเท่ากับ 6.0 และ 7.0 จะมีค่าเท่ากันและมีค่าสูงกว่า (0.22 ต่อชั่วโมง) ที่ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เริ่มต้นเท่ากับ 6.5 และ 5.5 ซึ่งมีค่าเท่ากับ 0.21 และ 0.18 ต่อชั่วโมง (ทั้ง 4 ค่าคำนวณในช่วงระหว่างชั่วโมงที่ 0 ถึงชั่วโมงที่ 4) ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพของการเปลี่ยนน้ำตาลรีดิวซ์ พบว่าที่ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เริ่มต้นเท่ากับ 5.5 จะค่าสูงที่สุดคือร้อยละ 94.76 ของน้ำตาลรีดิวซ์เริ่มต้น แต่จะมีค่าใกล้เคียงกับที่ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เริ่มต้นอื่น ๆ ที่มีค่าระหว่างร้อยละ 94.44-94.67 ของน้ำตาลรีดิวซ์เริ่มต้น สำหรับผลได้ของมวลเซลล์ พบว่าทุกค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เริ่มต้นจะมีค่าใกล้เคียงกันซึ่งมีค่าระหว่าง 0.022-0.024 กรัมมวลเซลล์ต่อกรัมน้ำตาลรีดิวซ์ที่ถูกใช้ไป เมื่อเปรียบเทียบผลได้ของเอทานอล พบว่าที่ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เริ่มต้นเท่ากับ 5.5 จะมีค่าสูงที่สุดคือ 0.437 กรัมเอทานอลต่อกรัมน้ำตาลรีดิวซ์ที่ถูกใช้ไป ส่วนที่ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เริ่มต้นอื่น ๆ จะมีค่าระหว่าง 0.357-0.423 กรัมเอทานอลต่อกรัมน้ำตาลรีดิวซ์ที่ถูกใช้ไป เมื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพของผลได้ของเอทานอล พบว่าที่ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เริ่มต้นเท่ากับ 5.5 จะมีค่าสูงที่สุดคือร้อยละ 85.96 ของค่าที่ได้ตามทฤษฎี สำหรับที่ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เริ่มต้นอื่น ๆ จะมีค่าระหว่างร้อยละ 70.00-82.94 ของค่าที่ได้ตามทฤษฎี ส่วนค่าอัตราผลผลิตของเอทานอล พบว่าที่ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เริ่มต้นเท่ากับ 5.5 จะมีค่าสูงที่สุดคือ 3.45 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง สูงกว่าที่ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เริ่มต้นเท่ากับ 6.0 และ 6.5 เพียงเล็กน้อย ในขณะที่ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เริ่มต้นเท่ากับ 7.0 จะมีค่าต่ำสุดคือ 2.81 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง

จากการเปรียบเทียบค่าพารามิเตอร์จลนพลศาสตร์ที่ได้จากการหมักเพื่อผลิตเอทานอล พบว่าที่ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เริ่มต้นเท่ากับ 5.5 แบคทีเรีย *Z. mobilis* TISTR 548 จะมีค่าผลได้ของเอทานอลและค่าอัตราผลผลิตของเอทานอลสูงกว่าที่ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เริ่มต้นอื่น ๆ ดังนั้นการเลือกใช้ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เริ่มต้นเท่ากับ 5.5 จึงมีความเหมาะสมที่สุดสำหรับการใช้ในการหมักเพื่อผลิตเอทานอลที่มีน้ำตาลรีดิวซ์เริ่มต้นเท่ากับ 100 กรัมต่อลิตร และที่อัตราการเขย่าเท่ากับ 100 รอบต่อนาที



ภาพที่ 15 เปรียบเทียบการหมักเพื่อผลิตเอทานอลโดยแบคทีเรีย *Z. mobilis* TISTR 548 ในอาหารเลี้ยงเชื้อสูตรอุดม ที่มีน้ำตาลรีดิวซ์เริ่มต้นเท่ากับ 100 กรัมต่อลิตร ที่ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เริ่มต้น 5.5 6.0 6.5 และ 7.0 ที่อัตราการเขย่า 100 รอบต่อนาที

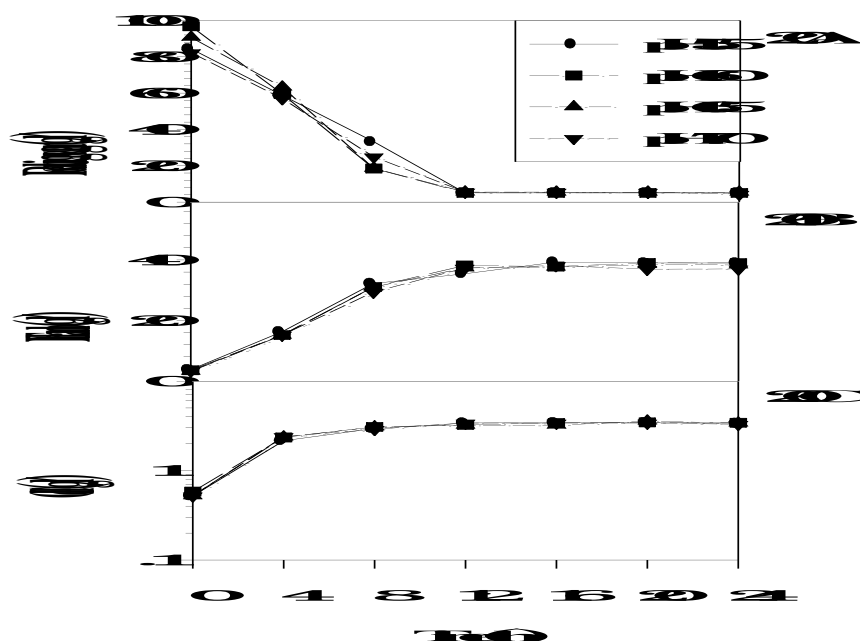
4.2.6 การศึกษาค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เริ่มต้นที่เหมาะสมที่มีน้ำตาลรีดิวซ์เริ่มต้นเท่ากับ 100 กรัมต่อลิตร และอัตราการเขย่า 200 รอบต่อนาที

จากการทดลอง พบว่าแบคทีเรีย *Z. mobilis* TISTR 548 สามารถที่จะใช้น้ำตาลรีดิวซ์ของทุกค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เริ่มต้นได้อย่างรวดเร็วภายใน 12 ชั่วโมงแรกของการหมัก (ภาพที่ 16A) และหลังจากชั่วโมงที่ 12 พบว่าความเข้มข้นของน้ำตาลรีดิวซ์จะมีค่าลดลงเพียงเล็กน้อยและมีค่าคงที่ตลอดระยะเวลาของการหมัก สำหรับความเข้มข้นต่ำสุดของน้ำตาลรีดิวซ์ที่วัดได้จากการหมักที่ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เริ่มต้นเท่ากับ 5.5 6.0 6.5 และ 7.0 มีค่าเท่ากับ 5.05 5.05 5.44 และ 5.50 กรัมต่อลิตรตามลำดับ ที่ระยะเวลาของการหมักนาน 12 ชั่วโมง สำหรับความเข้มข้นของเอทานอลที่ผลิตได้ พบว่าแบคทีเรีย *Z. mobilis* TISTR 548 สามารถที่จะผลิตเอทานอลได้อย่างต่อเนื่องตั้งแต่ชั่วโมงที่ 0 จนกระทั่งถึงชั่วโมงที่ 12 ของทุกค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เริ่มต้น ซึ่งหลังจากชั่วโมงที่ 12 พบว่าทุกค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เริ่มต้นจะมีค่าความเข้มข้นของเอทานอลค่อนข้างคงที่ตลอดระยะเวลาของการหมัก (ภาพที่ 16B) สำหรับความเข้มข้นสูงสุดของเอทานอลที่ผลิตได้จากการหมักที่ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เริ่มต้นเท่ากับ 5.5 6.0 6.5 และ 7.0 มีค่าเท่ากับ 38.45 38.15 37.33 และ 37.31 กรัมต่อลิตรตามลำดับ

สำหรับความเข้มข้นของมวลเซลล์ที่ผลิตได้ พบว่าทุกค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เริ่มต้นจะมีมวลเซลล์เพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่องภายใน 4 ชั่วโมงแรกของการหมัก (ภาพที่ 16C) ซึ่งหลังจากชั่วโมงที่ 4 พบว่าทุกค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เริ่มต้นจะมีค่าเพิ่มสูงขึ้นอีกเพียงเล็กน้อยจนกระทั่งถึงชั่วโมงที่ 8 ซึ่งหลังจากชั่วโมงที่ 8 พบว่าความเข้มข้นของมวลเซลล์จะมีค่าคงที่และและไม่เปลี่ยนแปลงตลอดระยะเวลาของการหมัก สำหรับความเข้มข้นสูงสุดของมวลเซลล์ที่วัดได้จากการหมักที่ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เริ่มต้นเท่ากับ 5.5 6.0 6.5 และ 7.0 มีค่าเท่ากับ 3.40 3.23 3.20 และ 3.39 กรัมต่อลิตรตามลำดับ

เมื่อเปรียบเทียบค่าพารามิเตอร์จลนพลศาสตร์ที่ได้จากการหมักเพื่อผลิตเอทานอล พบว่าแบคทีเรีย *Z. mobilis* TISTR 548 จะมีการเจริญเติบโตอย่างรวดเร็วในช่วงระหว่างชั่วโมงที่ 0 ถึงชั่วโมงที่ 4 โดยไม่พบระยะพักตัวของแบคทีเรีย เมื่อเปรียบค่าอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ พบว่าที่ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เริ่มต้นเท่ากับ 6.5 และ 7.0 จะมีค่าเท่ากันและมีค่าสูงกว่า (0.38 ต่อชั่วโมง) ที่ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เริ่มต้นเท่ากับ 5.5 และ 6.0 ซึ่งมีค่าเท่ากับ 0.36 และ 0.35 ต่อชั่วโมง (ทั้ง 4 ค่าคำนวณในช่วงระหว่างชั่วโมงที่ 0 ถึงชั่วโมงที่ 4) ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพของการเปลี่ยนน้ำตาลรีดิวซ์ พบว่าที่ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เริ่มต้นเท่ากับ 5.5 และ 6.0 จะมีค่าเท่ากันและมีค่าสูงที่สุดคือร้อยละ 94.95 ของน้ำตาลรีดิวซ์เริ่มต้น สูงกว่าที่ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เริ่มต้นอื่น ๆ เพียงเล็กน้อยซึ่งมีค่าระหว่างร้อยละ 94.50-94.56 ของน้ำตาลรีดิวซ์เริ่มต้น สำหรับผลได้ของมวลเซลล์ พบว่าทุกค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เริ่มต้นจะมีค่าใกล้เคียงกันมาก ซึ่งมีค่าระหว่าง 0.034-0.036 กรัมมวลเซลล์ต่อกรัมน้ำตาลรีดิวซ์ที่ถูกใช้ไป เมื่อเปรียบเทียบผลได้ของเอทานอล พบว่าที่ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เริ่มต้นเท่ากับ 5.5 และ 6.0 จะมีค่าใกล้เคียงกันมาก ซึ่งจะมีค่าระหว่าง 0.402-0.405 กรัมเอทานอลต่อกรัมน้ำตาลรีดิวซ์ที่ถูกใช้ไป ส่วนที่ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เริ่มต้นเท่ากับ 6.5 และ 7.0 จะมีค่าเท่ากันคือ 0.395 กรัมเอทานอลต่อกรัมน้ำตาลรีดิวซ์ที่ถูกใช้ไป เมื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพของผลได้ของเอทานอล พบว่าที่ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เริ่มต้นเท่ากับ 5.5 จะมีค่าสูงที่สุดคือร้อยละ 79.41 ของค่าที่ได้ตามทฤษฎี แต่สำหรับที่ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เริ่มต้นอื่น ๆ จะมีค่าระหว่างร้อยละ 77.45-78.82 ของค่าที่ได้ตามทฤษฎี สำหรับค่าอัตราผลผลิตของเอทานอล พบว่าที่ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เริ่มต้นเท่ากับ 5.5 และ 6.0 จะมีค่าใกล้เคียงกันมาก ซึ่งมีค่าเท่ากับ 3.20 และ 3.18 กรัมต่อลิตรต่อลิตร ในขณะที่ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เริ่มต้นเท่ากับ 6.5 และ 7.0 จะมีค่าเท่ากันและมีค่าต่ำสุดคือ 3.11 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง

จากการเปรียบเทียบค่าพารามิเตอร์จลนพลศาสตร์ที่ได้จากการหมักเพื่อผลิตเอทานอล พบว่าที่ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เริ่มต้นเท่ากับ 5.5 และ 6.0 แบคทีเรีย *Z. mobilis* TISTR 548 จะมีค่าผลได้ของเอทานอลและค่าอัตราผลผลิตของเอทานอลสูงกว่าที่ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) อื่น ๆ ดังนั้นการเลือกใช้ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เริ่มต้นเท่ากับ 5.5 หรือ 6.0 จึงมีความเหมาะสมที่สุดสำหรับการใช้ในการหมักเพื่อผลิตเอทานอลที่มีน้ำตาลรีดิวซ์เริ่มต้นเท่ากับ 100 กรัมต่อลิตร และที่อัตราการเขย่าเท่ากับ 200 รอบต่อนาที



ภาพที่ 16 เปรียบเทียบการหมักเพื่อผลิตเอทานอลโดยแบคทีเรีย *Z. mobilis* TISTR 548 ในอาหารเลี้ยงเชื้อสูตรอุดม ที่มีน้ำตาลรีดิวซ์เริ่มต้นเท่ากับ 100 กรัมต่อลิตร ที่ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เริ่มต้น 5.5 6.0 6.5 และ 7.0 ที่อัตราการเขย่า 200 รอบต่อนาที

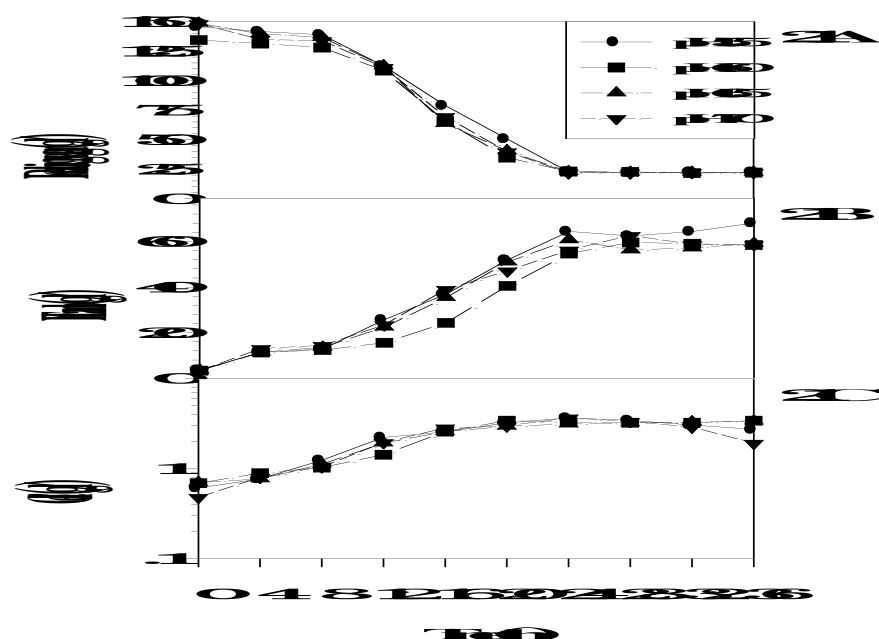
4.2.7 การศึกษาค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เริ่มต้นที่เหมาะสมที่มีน้ำตาลรีดิวซ์เริ่มต้นเท่ากับ 150 กรัมต่อลิตร และอัตราการเขย่า 0 รอบต่อนาที

จากการทดลอง พบว่าแบคทีเรีย *Z. mobilis* TISTR 548 สามารถที่จะใช้น้ำตาลรีดิวซ์ของทุกค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เริ่มต้นได้อย่างต่อเนื่องภายใน 24 ชั่วโมงแรกของการหมัก (ภาพที่ 17A) และหลังจากชั่วโมงที่ 24 พบว่าความเข้มข้นของน้ำตาลรีดิวซ์จะมีค่าลดลงเพียงเล็กน้อยและมีค่าคงที่ตลอดระยะเวลาของการหมัก สำหรับความเข้มข้นต่ำสุดของน้ำตาลรีดิวซ์ที่วัดได้จากการหมักที่ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เริ่มต้นเท่ากับ 5.5 6.0 6.5 และ 7.0 มีค่าเท่ากับ 22.80 23.02 22.80 และ 21.89 กรัมต่อลิตรตามลำดับ ที่ระยะเวลาของการหมักเท่ากันคือ 24 ชั่วโมง สำหรับความเข้มข้นของเอทานอลที่ผลิตได้ พบว่าในช่วงระหว่างชั่วโมงที่ 0 ถึงชั่วโมงที่ 8 แบคทีเรีย *Z. mobilis* TISTR 548 จะผลิตเอทานอลได้ค่อนข้างต่ำ แต่หลังจากชั่วโมงที่ 8 พบว่าการผลิตเอทานอลจะเกิดขึ้นอย่างต่อเนื่องจนกระทั่งถึงชั่วโมงที่ 24 ของทุกค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เริ่มต้น ซึ่งหลังจากชั่วโมงที่ 24 พบว่าทุกค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เริ่มต้นจะมีความเข้มข้นของเอทานอลค่อนข้างคงที่ตลอดระยะเวลาของการหมัก (ภาพที่ 17B) สำหรับความเข้มข้นสูงสุดของเอทานอลที่ผลิตได้จากการหมักที่ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เริ่มต้นเท่ากับ 5.5 6.0 6.5 และ 7.0 มีค่าเท่ากับ 64.41 54.73 60.67 และ 56.22 กรัมต่อลิตรตามลำดับ สำหรับความเข้มข้นของมวลเซลล์ที่ผลิตได้ พบว่าในชั่วโมงที่ 0 ถึงชั่วโมงที่ 4 แบคทีเรียจะมีการเจริญเติบโตเพิ่มจำนวนเพียงเล็กน้อย แต่หลังจากชั่วโมงที่ 4 พบว่าทุกค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เริ่มต้นจะมีความเข้มข้นของมวลเซลล์เพิ่มสูงขึ้นอย่างต่อเนื่องจนกระทั่งถึงชั่วโมงที่ 20 ของการหมัก (ภาพที่ 17C) ซึ่งหลังจากชั่วโมงที่ 20 พบว่าทุกค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เริ่มต้นจะมีความเข้มข้นของมวลเซลล์เพิ่มสูงขึ้นอีกเพียงเล็กน้อยและมีค่าไม่เปลี่ยนแปลงตลอด

ระยะเวลาของการหมัก สำหรับความเข้มข้นสูงสุดของมวลเซลล์ที่วัดได้จากการหมักที่ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เริ่มต้นเท่ากับ 5.5 6.0 6.5 และ 7.0 มีค่าเท่ากับ 3.67 3.30 3.13 และ 3.67 กรัมต่อลิตรตามลำดับ

เมื่อเปรียบเทียบค่าพารามิเตอร์จลนพลศาสตร์ที่ได้จากการหมักเพื่อผลิตเอทานอล พบว่าแบคทีเรีย *Z. mobilis* TISTR 548 จะมีระยะพักตัวในช่วงแรกของการหมักคือ ในช่วงระหว่างชั่วโมงที่ 0 ถึงชั่วโมงที่ 4 เมื่อเปรียบค่าอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ พบว่าทุกค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เริ่มต้นจะมีค่าอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะที่ใกล้เคียงกันมากคือ จะมีค่าในช่วงระหว่าง 0.11-0.13 ต่อชั่วโมง โดยที่ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เริ่มต้นเท่ากับ 5.5 จะมีค่าสูงที่สุดคือ 0.13 ต่อชั่วโมง (คำนวณในช่วงระหว่างชั่วโมงที่ 8 ถึงชั่วโมงที่ 12) เมื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพของการเปลี่ยนน้ำตาลรีดิวซ์ พบว่าที่ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เริ่มต้นเท่ากับ 7.0 จะมีค่าสูงที่สุดคือ ร้อยละ 85.41 ของน้ำตาลรีดิวซ์เริ่มต้น ในขณะที่ที่ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เริ่มต้นอื่น ๆ จะมีค่าระหว่าง 84.65-84.67 ของน้ำตาลรีดิวซ์เริ่มต้น สำหรับผลได้ของมวลเซลล์ พบว่าที่ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เริ่มต้นเท่ากับ 5.5 และ 7.0 จะมีค่าเท่ากันและมีค่าสูงที่สุดคือ 0.029 กรัมมวลเซลล์ต่อกรัมน้ำตาลรีดิวซ์ที่ถูกใช้ไป ในขณะที่ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เริ่มต้นอื่น ๆ จะมีค่าระหว่าง 0.025-0.026 กรัมมวลเซลล์ต่อกรัมน้ำตาลรีดิวซ์ที่ถูกใช้ไป เมื่อเปรียบเทียบผลได้ของเอทานอล พบว่าที่ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เริ่มต้นเท่ากับ 5.5 จะมีค่าสูงที่สุดคือ 0.506 กรัมเอทานอลต่อกรัมน้ำตาลรีดิวซ์ที่ถูกใช้ไป ในขณะที่ที่ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เริ่มต้นอื่น ๆ จะมีค่าระหว่าง 0.431-0.477 กรัมเอทานอลต่อกรัมน้ำตาลรีดิวซ์ที่ถูกใช้ไป เมื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพของผลได้ของเอทานอล พบว่าที่ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เริ่มต้นเท่ากับ 5.5 จะมีค่าสูงที่สุดคือร้อยละ 99.22 ของค่าที่ได้ตามทฤษฎี แต่สำหรับที่ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เริ่มต้นอื่น ๆ จะมีค่าระหว่างร้อยละ 84.51-93.53 ของค่าที่ได้ตามทฤษฎี สำหรับค่าอัตราผลผลิตของเอทานอล พบว่าที่ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เริ่มต้นเท่ากับ 5.5 จะมีค่าสูงที่สุดคือ 2.68 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง ส่วนที่ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เริ่มต้นอื่น ๆ จะมีค่าระหว่าง 2.28-2.34 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง

จากการเปรียบเทียบค่าพารามิเตอร์จลนพลศาสตร์ที่ได้จากการหมักเพื่อผลิตเอทานอล พบว่าที่ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เริ่มต้นเท่ากับ 5.5 แบคทีเรีย *Z. mobilis* TISTR 548 จะมีค่าผลได้ของเอทานอลและค่าอัตราผลผลิตของเอทานอลสูงกว่าที่ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เริ่มต้นอื่น ๆ ดังนั้นการเลือกใช้ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เริ่มต้นเท่ากับ 5.5 จึงมีความเหมาะสมที่สุดสำหรับการใช้ในการหมักเพื่อผลิตเอทานอลที่มีน้ำตาลรีดิวซ์เริ่มต้นเท่ากับ 150 กรัมต่อลิตร และที่อัตราการเขย่าเท่ากับ 0 รอบต่อนาที



ภาพที่ 17 เปรียบเทียบการหมักเพื่อผลิตเอทานอลโดยแบคทีเรีย *Z. mobilis* TISTR 548 ในอาหารเลี้ยงเชื้อสูตรอุดม ที่มีน้ำตาลรีดิวซ์เริ่มต้นเท่ากับ 150 กรัมต่อลิตร ที่ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เริ่มต้น 5.5 6.0 6.5 และ 7.0 ที่อัตราการเขย่า 0 รอบต่อนาที

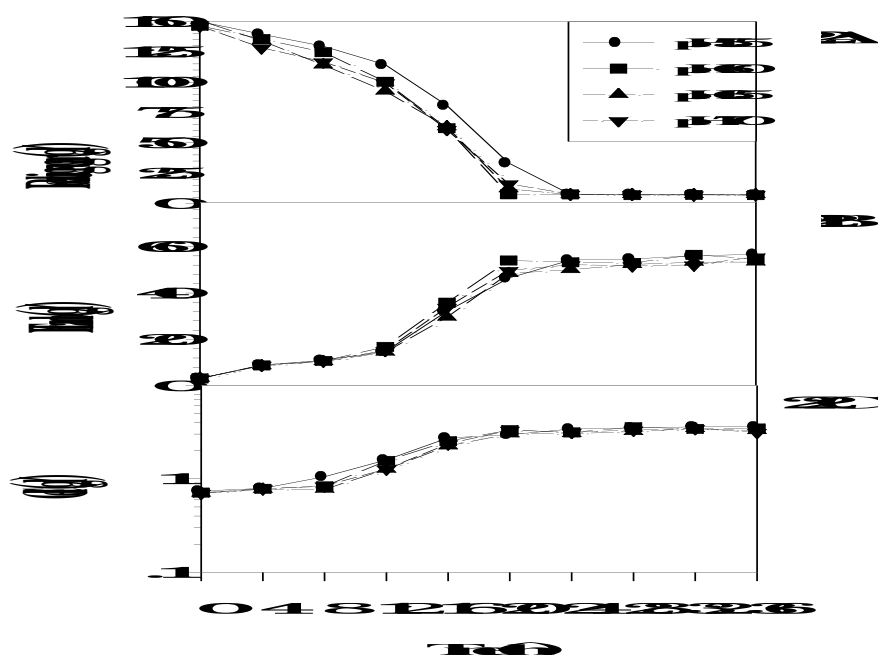
4.2.8 การศึกษาค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เริ่มต้นที่เหมาะสมที่มีน้ำตาลรีดิวซ์เริ่มต้นเท่ากับ 150 กรัมต่อลิตร และอัตราการเขย่า 100 รอบต่อนาที

จากการทดลอง พบว่าแบคทีเรีย *Z. mobilis* TISTR 548 สามารถที่จะใช้น้ำตาลรีดิวซ์ของทุกค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เริ่มต้นได้อย่างต่อเนื่องภายใน 24 ชั่วโมงแรกของการหมัก (ภาพที่ 18A) และหลังจากชั่วโมงที่ 24 พบว่าความเข้มข้นของน้ำตาลรีดิวซ์จะมีค่าลดลงเพียงเล็กน้อยและมีค่าคงที่ตลอดระยะเวลาของการหมัก สำหรับความเข้มข้นต่ำสุดของน้ำตาลรีดิวซ์ที่วัดได้จากการหมักที่ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เริ่มต้นเท่ากับ 5.5 6.0 6.5 และ 7.0 มีค่าเท่ากับ 7.41 7.50 7.13 และ 7.59 กรัมต่อลิตรตามลำดับ ที่ระยะเวลาของการหมักเท่ากันคือ 24 ชั่วโมง สำหรับความเข้มข้นของเอทานอลที่ผลิตได้ พบว่าในช่วงระหว่างชั่วโมงที่ 0 ถึงชั่วโมงที่ 12 แบคทีเรีย *Z. mobilis* TISTR 548 จะผลิตเอทานอลได้ค่อนข้างต่ำ แต่หลังจากชั่วโมงที่ 12 พบว่าการผลิตเอทานอลจะเกิดขึ้นอย่างต่อเนื่องจนกระทั่งถึงชั่วโมงที่ 24 ของทุกค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เริ่มต้น ซึ่งหลังจากชั่วโมงที่ 24 พบว่าทุกค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เริ่มต้นจะมีความเข้มข้นของเอทานอลค่อนข้างคงที่ตลอดระยะเวลาของการหมัก (ภาพที่ 18B) สำหรับความเข้มข้นสูงสุดของเอทานอลที่ผลิตได้จากการหมักที่ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เริ่มต้นเท่ากับ 5.5 6.0 6.5 และ 7.0 มีค่าเท่ากับ 54.22 53.25 50.06 และ 52.15 กรัมต่อลิตรตามลำดับ สำหรับความเข้มข้นของมวลเซลล์ที่ผลิตได้ พบว่าในช่วงระหว่างชั่วโมงที่ 0 ถึงชั่วโมงที่ 8 แบคทีเรียจะมีการเจริญเติบโตเพียงเล็กน้อย ซึ่งเป็นระยะพักตัวของแบคทีเรีย แต่หลังจากชั่วโมงที่ 8 พบว่าทุกค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เริ่มต้นจะมีความเข้มข้นของมวลเซลล์เพิ่มสูงขึ้นอย่างต่อเนื่องจนกระทั่งถึงชั่วโมงที่ 20 ของการหมัก (ภาพที่ 18C) ซึ่งหลังจากชั่วโมงที่ 20 พบว่าทุกค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เริ่มต้นจะมีความเข้มข้นของมวลเซลล์เพิ่มสูงขึ้นอีกเพียงเล็กน้อย และมีค่าไม่

เปลี่ยนแปลงตลอดระยะเวลาของการหมัก สำหรับความเข้มข้นสูงสุดของมวลเซลล์ที่ผลิตได้จากการหมักที่ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เริ่มต้นเท่ากับ 5.5 6.0 6.5 และ 7.0 มีค่าเท่ากับ 3.40 3.31 3.02 และ 3.30 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ

เมื่อเปรียบเทียบค่าพารามิเตอร์จลนพลศาสตร์ที่ได้จากการหมักเพื่อผลิตเอทานอล พบว่าแบคทีเรีย *Z. mobilis* TISTR 548 จะมีระยะพักตัวในช่วงแรกของการหมักคือในช่วงระหว่างชั่วโมงที่ 0 ถึงชั่วโมงที่ 8 เมื่อเปรียบเทียบค่าอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ พบว่าทุกค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เริ่มต้นจะมีค่าอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะใกล้เคียงกันมาก ซึ่งจะมีค่าระหว่าง 0.12-0.14 ต่อชั่วโมง (ทั้ง 4 ค่าคำนวณในช่วงระหว่างชั่วโมงที่ 8 ถึงชั่วโมงที่ 16) เมื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพของการเปลี่ยนน้ำตาลรีดิวซ์ พบว่าที่ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เริ่มต้นเท่ากับ 6.5 จะมีค่าสูงที่สุดคือร้อยละ 95.25 ของน้ำตาลรีดิวซ์เริ่มต้น สำหรับที่ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เริ่มต้นอื่น ๆ จะมีค่าระหว่างร้อยละ 94.94-95.06 ของน้ำตาลรีดิวซ์เริ่มต้น สำหรับผลได้ของมวลเซลล์ พบว่าที่ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เริ่มต้นเท่ากับ 5.5 6.0 และ 7.0 จะมีค่าใกล้เคียงกัน ซึ่งมีค่าระหว่าง 0.023-0.024 กรัมมวลเซลล์ต่อกรัมน้ำตาลรีดิวซ์ที่ถูกใช้ไป ในขณะที่ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เริ่มต้นเท่ากับ 6.5 จะมีค่าต่ำสุดคือ 0.021 กรัมมวลเซลล์ต่อกรัมน้ำตาลรีดิวซ์ที่ถูกใช้ไป เมื่อเปรียบเทียบผลได้ของเอทานอล พบว่าที่ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เริ่มต้นเท่ากับ 5.5 และ 6.0 จะมีค่าใกล้เคียงกัน ซึ่งมีค่าระหว่าง 0.374-0.380 กรัมเอทานอลต่อกรัมน้ำตาลรีดิวซ์ที่ถูกใช้ไป ส่วนที่ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เริ่มต้นอื่น ๆ จะมีค่าระหว่าง 0.350-0.366 กรัมเอทานอลต่อกรัมน้ำตาลรีดิวซ์ที่ถูกใช้ไป เมื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพของผลได้ของเอทานอล พบว่าที่ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เริ่มต้นเท่ากับ 5.5 จะมีค่าสูงที่สุดคือร้อยละ 74.51 ของค่าที่ได้ตามทฤษฎี สำหรับที่ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เริ่มต้นอื่น ๆ จะมีค่าระหว่างร้อยละ 68.63-73.33 ของค่าที่ได้ตามทฤษฎี สำหรับค่าอัตราผลผลิตของเอทานอล พบว่าที่ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เริ่มต้นเท่ากับ 5.5 และ 6.0 จะมีค่าใกล้เคียงกัน ซึ่งมีค่าระหว่าง 2.22-2.26 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง ส่วนที่ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เริ่มต้นอื่น ๆ จะมีค่าระหว่าง 2.09-2.17 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง

จากการเปรียบเทียบค่าพารามิเตอร์จลนพลศาสตร์ที่ได้จากการหมักเพื่อผลิตเอทานอล พบว่าที่ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เริ่มต้นเท่ากับ 5.5 และ 6.0 แบคทีเรีย *Z. mobilis* TISTR 548 จะมีค่าผลได้ของเอทานอลและค่าอัตราผลผลิตของเอทานอลสูงกว่าที่ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เริ่มต้นอื่น ๆ ดังนั้นการเลือกใช้ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เริ่มต้นเท่ากับ 5.5 หรือ 6.0 จึงมีความเหมาะสมที่สุดสำหรับการใช้ในการหมักเพื่อผลิตเอทานอลที่มีน้ำตาลรีดิวซ์เริ่มต้นเท่ากับ 150 กรัมต่อลิตร และที่อัตราการเขย่าเท่ากับ 100 รอบต่อนาที

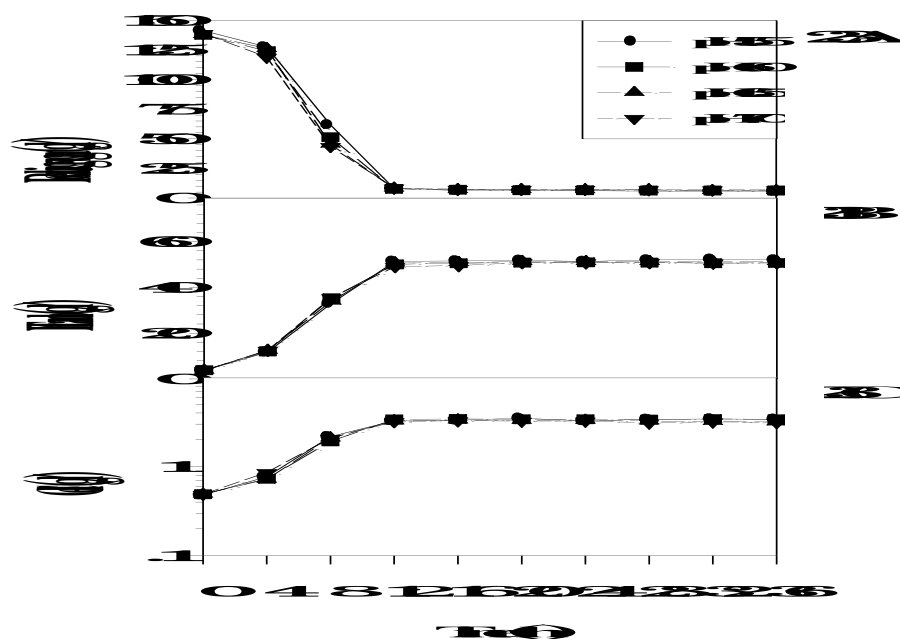


ภาพที่ 18 เปรียบเทียบการหมักเพื่อผลิตเอทานอลโดยแบคทีเรีย *Z. mobilis* TISTR 548 ในอาหารเลี้ยงเชื้อสูตรอุดม ที่มีน้ำตาลรีดิวซ์เริ่มต้นเท่ากับ 150 กรัมต่อลิตร ที่ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เริ่มต้น 5.5 6.0 6.5 และ 7.0 ที่อัตราการเขย่า 100 รอบต่อนาที

4.2.9 การศึกษาค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เริ่มต้นที่เหมาะสมที่มีน้ำตาลรีดิวซ์เริ่มต้นเท่ากับ 150 กรัมต่อลิตร และอัตราการเขย่า 200 รอบต่อนาที

จากการทดลอง พบว่าแบคทีเรีย *Z. mobilis* TISTR 548 สามารถที่จะใช้น้ำตาลรีดิวซ์ของทุกค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เริ่มต้นได้อย่างรวดเร็วภายใน 12 ชั่วโมงแรกของการหมัก (ภาพที่ 19A) และหลังจากชั่วโมงที่ 12 พบว่าความเข้มข้นของน้ำตาลรีดิวซ์จะมีค่าลดลงเพียงเล็กน้อยและมีค่าคงที่ตลอดระยะเวลาของการหมัก สำหรับความเข้มข้นต่ำสุดของน้ำตาลรีดิวซ์ที่วัดได้จากการหมักที่ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เริ่มต้นเท่ากับ 5.5 6.0 6.5 และ 7.0 มีค่าเท่ากับ 7.89 7.69 8.19 และ 8.49 กรัมต่อลิตรตามลำดับ ที่ระยะเวลาของการหมักเท่ากันคือ 12 ชั่วโมง สำหรับความเข้มข้นของเอทานอลที่ผลิตได้ พบว่าแบคทีเรีย *Z. mobilis* TISTR 548 สามารถที่จะผลิตเอทานอลได้อย่างต่อเนื่องตั้งแต่ชั่วโมงที่ 0 จนกระทั่งถึงชั่วโมงที่ 12 ของทุกค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เริ่มต้น และหลังจากชั่วโมงที่ 12 พบว่าการผลิตเอทานอลจะมีค่าคงที่ตลอดระยะเวลาของการหมัก (ภาพที่ 19B) สำหรับความเข้มข้นสูงสุดของเอทานอลที่ผลิตได้จากการหมักที่ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เริ่มต้นเท่ากับ 5.5 6.0 6.5 และ 7.0 มีค่าเท่ากับ 51.37 50.06 50.63 และ 49.08 กรัมต่อลิตรตามลำดับ สำหรับความเข้มข้นของมวลเซลล์ที่ผลิตได้ พบว่าในช่วงระหว่างชั่วโมงที่ 0 ถึงชั่วโมงที่ 4 แบคทีเรียจะมีการเจริญเติบโตเพียงเล็กน้อยของทุกค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เริ่มต้น ซึ่งเป็นระยะพักตัวของแบคทีเรีย (ภาพที่ 19C) ซึ่งหลังจากชั่วโมงที่ 4 พบว่าทุกค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เริ่มต้นจะมีความเข้มข้นของมวลเซลล์เพิ่มสูงขึ้นอย่างรวดเร็วจนกระทั่งถึงชั่วโมงที่ 12 และหลังจากชั่วโมงที่ 12 พบว่าความเข้มข้นของมวลเซลล์จะมีค่าคงที่ตลอดระยะเวลาของการหมัก สำหรับความเข้มข้นสูงสุดของมวลเซลล์ที่ผลิตได้จากการหมักที่ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เริ่มต้นเท่ากับ 5.5 6.0 6.5 และ 7.0 มีค่าเท่ากับ 3.27 3.38 3.25 และ 3.20 กรัมต่อลิตรตามลำดับ

เมื่อเปรียบเทียบค่าพารามิเตอร์จลนพลศาสตร์ที่ได้จากการหมักเพื่อผลิตเอทานอล พบว่าแบคทีเรีย *Z. mobilis* TISTR 548 จะมีระยะพักตัวในช่วงแรกของการหมักคือ ในช่วงระหว่างชั่วโมงที่ 0 ถึงชั่วโมงที่ 4 เมื่อเปรียบเทียบค่าอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ พบว่าที่ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เริ่มต้นเท่ากับ 6.5 จะมีค่าสูงกว่า (0.27 ต่อชั่วโมง) ที่ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เริ่มต้นเท่ากับ 5.5 6.0 และ 7.0 ซึ่งมีค่าเท่ากับ 0.26 0.24 และ 0.22 ต่อชั่วโมง (ทั้ง 4 ค่าคำนวณในช่วงระหว่างชั่วโมงที่ 4 ถึงชั่วโมงที่ 8) ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพของการเปลี่ยนน้ำตาลรีดิวซ์ พบว่าที่ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เริ่มต้นเท่ากับ 6.5 จะมีค่าสูงที่สุดคือร้อยละ 94.78 ของน้ำตาลรีดิวซ์เริ่มต้น สำหรับที่ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เริ่มต้นอื่น ๆ จะมีค่าระหว่างร้อยละ 94.34-94.74 ของน้ำตาลรีดิวซ์เริ่มต้น สำหรับผลได้ของมวลเซลล์ พบว่าทุกค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เริ่มต้นจะมีค่าใกล้เคียงกัน คือ มีค่าระหว่าง 0.023-0.024 กรัมมวลเซลล์ต่อกรัมน้ำตาลรีดิวซ์ที่ถูกใช้ไป เมื่อเปรียบเทียบผลได้ของเอทานอล พบว่าที่ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เริ่มต้นเท่ากับ 5.5 และ 6.5 จะมีค่าใกล้เคียงกัน ซึ่งมีค่าระหว่าง 0.357-0.362 กรัมเอทานอลต่อกรัมน้ำตาลรีดิวซ์ที่ถูกใช้ไป ส่วนที่ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เริ่มต้นอื่น ๆ จะมีค่าระหว่าง 0.347-0.352 กรัมเอทานอลต่อกรัมน้ำตาลรีดิวซ์ที่ถูกใช้ไป เมื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพของผลได้ของเอทานอล พบว่าที่ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เริ่มต้นเท่ากับ 5.5 และ 6.5 จะมีค่าใกล้เคียงกันในช่วงระหว่างร้อยละ 70.00-70.98 ของค่าที่ได้ตามทฤษฎี แต่สำหรับที่ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เริ่มต้นอื่น ๆ จะมีค่าระหว่างร้อยละ 68.08-69.02 ของค่าที่ได้ตามทฤษฎี สำหรับค่าอัตราผลผลิตของเอทานอล พบว่าที่ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เริ่มต้นเท่ากับ 5.5 และ 6.5 จะมีค่าใกล้เคียงกัน ซึ่งมีค่าระหว่าง 4.22-4.28 กรัมต่อลิตรต่อลิตร ส่วนที่ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เริ่มต้นอื่น ๆ จะมีค่าระหว่าง 4.09-4.17 กรัมต่อลิตรต่อลิตร



ภาพที่ 19 เปรียบเทียบการหมักเพื่อผลิตเอทานอลโดยแบคทีเรีย *Z. mobilis* TISTR 548 ในอาหารเลี้ยงเชื้อสูตรอุดม ที่มีน้ำตาลรีดิวซ์เริ่มต้นเท่ากับ 150 กรัมต่อลิตร ที่ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เริ่มต้น 5.5 6.0 6.5 และ 7.0 ที่อัตราการเขย่า 200 รอบต่อนาที

จากการเปรียบเทียบค่าพารามิเตอร์จลนพลศาสตร์ที่ได้จากการหมักเพื่อผลิตเอทานอล พบว่าที่ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เริ่มต้นเท่ากับ 5.5 และ 6.5 แบคทีเรีย *Z. mobilis* TISTR 548 จะมีค่าผลได้ของเอทานอลและค่าอัตราผลผลิตของเอทานอลสูงกว่าที่ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เริ่มต้นอื่น ๆ ดังนั้นการเลือกใช้ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เริ่มต้นเท่ากับ 5.5 หรือ 6.5 จึงมีความเหมาะสมที่สุดสำหรับการใช้ในการหมักเพื่อผลิตเอทานอลที่มีน้ำตาลรีดิวซ์เริ่มต้นเท่ากับ 150 กรัมต่อลิตร และที่อัตราการเขย่าเท่ากับ 200 รอบต่อนาที

4.2.10 การศึกษาความเข้มข้นของน้ำตาลรีดิวซ์เริ่มต้น และอัตราการเขย่าที่เหมาะสม

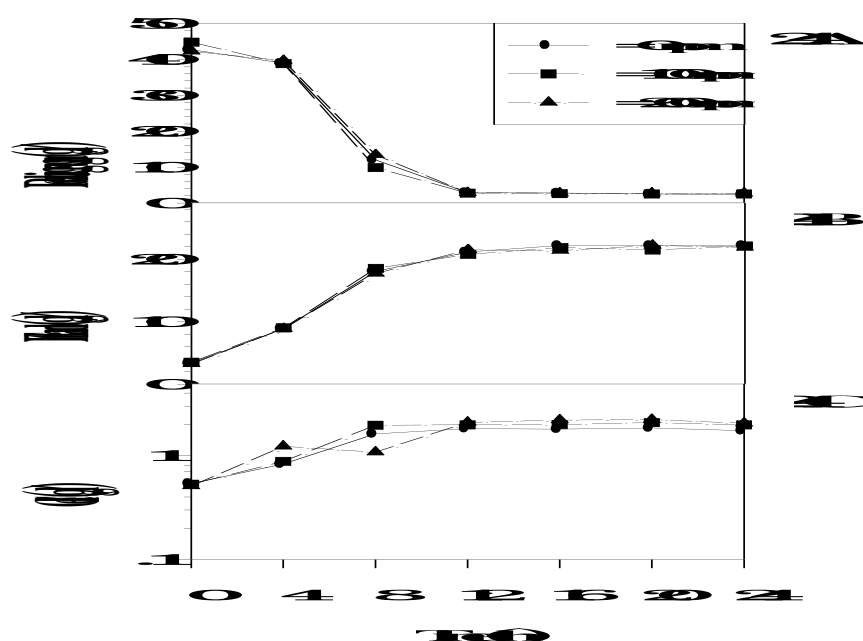
4.2.10.1 ความเข้มข้นของน้ำตาลรีดิวซ์เท่ากับ 50 กรัมต่อลิตร และอัตราการเขย่าเท่ากับ 0 100 และ 200 รอบต่อนาที

จากการทดลอง พบว่าแบคทีเรีย *Z. mobilis* TISTR 548 สามารถที่จะใช้น้ำตาลรีดิวซ์ของทุกค่าอัตราการเขย่าได้อย่างรวดเร็วภายใน 8 ชั่วโมงแรกของการหมัก (ภาพที่ 20A) และหลังจากชั่วโมงที่ 8 พบว่าความเข้มข้นของน้ำตาลรีดิวซ์จะมีค่าลดลงเพียงเล็กน้อยและมีค่าคงที่ตลอดระยะเวลาของการหมัก สำหรับความเข้มข้นต่ำสุดของน้ำตาลรีดิวซ์ที่วัดได้จากการหมักที่อัตราการเขย่าเท่ากับ 0 100 และ 200 รอบต่อนาที มีค่าเท่ากับ 2.94 2.75 และ 2.85 กรัมต่อลิตรตามลำดับ ที่ระยะเวลาของการหมักเท่ากันคือ 8 ชั่วโมง สำหรับความเข้มข้นของเอทานอลที่ผลิตได้ พบว่าทุกค่าอัตราการเขย่าจะมีความเข้มข้นของเอทานอลเพิ่มสูงขึ้นอย่างต่อเนื่องตั้งแต่ชั่วโมงที่ 0 ถึงชั่วโมงที่ 8 (ภาพที่ 20B) ซึ่งหลังจากชั่วโมงที่ 8 พบว่าความเข้มข้นของเอทานอลจะมีค่าเพิ่มสูงขึ้นอีกเพียงเล็กน้อยและจะมีค่าคงที่ตลอดระยะเวลาของการหมัก สำหรับความเข้มข้นสูงสุดของเอทานอลที่ผลิตได้จากการหมักที่อัตราการเขย่าเท่ากับ 0 100 และ 200 รอบต่อนาที มีค่าเท่ากับ 22.16 20.75 และ 21.49 กรัมต่อลิตรตามลำดับ สำหรับความเข้มข้นของมวลเซลล์ที่ผลิตได้ พบว่าที่ค่าอัตราการเขย่าเท่ากับ 0 และ 100 รอบต่อนาที จะมีความเข้มข้นของมวลเซลล์เพิ่มสูงขึ้นใกล้เคียงกันตั้งแต่ชั่วโมงที่ 0 ถึงชั่วโมงที่ 8 (ภาพที่ 20C) ในขณะที่อัตราการเขย่าเท่ากับ 200 รอบต่อนาที จะมีความเข้มข้นของมวลเซลล์เพิ่มสูงขึ้นอย่างรวดเร็วภายใน 4 ชั่วโมงแรก และมีค่าลดลงในชั่วโมงที่ 8 แต่จะมีค่าเพิ่มสูงขึ้นอีกจนกระทั่งถึงชั่วโมงที่ 12 ซึ่งหลังจากชั่วโมงที่ 12 พบว่าทุกค่าอัตราการเขย่าจะมีความเข้มข้นของมวลเซลล์คงที่ตลอดระยะเวลาของการหมัก สำหรับความเข้มข้นสูงสุดของมวลเซลล์ที่ผลิตได้จากการหมักที่อัตราการเขย่าเท่ากับ 0 100 และ 200 รอบต่อนาที จะมีค่าเท่ากับ 1.82 1.98 และ 2.09 กรัมต่อลิตรตามลำดับ

เมื่อเปรียบเทียบค่าพารามิเตอร์จลนพลศาสตร์ที่ได้จากการหมักเพื่อผลิตเอทานอล พบว่าที่อัตราการเขย่าเท่ากับ 200 รอบต่อนาที แบคทีเรีย *Z. mobilis* TISTR 548 จะมีการเจริญเติบโตอย่างรวดเร็วในช่วงระหว่างชั่วโมงที่ 0 ถึงชั่วโมงที่ 4 ในขณะที่ค่าอัตราการเขย่าเท่ากับ 0 และ 100 รอบต่อนาที แบคทีเรียจะมีการเจริญเติบโตอย่างรวดเร็วในช่วงระหว่างชั่วโมงที่ 4 ถึงชั่วโมงที่ 8 ซึ่งทุกอัตราการเขย่าจะไม่สามารถวัดระยะพักตัวของแบคทีเรียได้ เมื่อเปรียบเทียบค่าอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ พบว่าที่ค่าอัตราการเขย่าเท่ากับ 100 รอบต่อนาที จะมีค่าสูงกว่า (0.20 ต่อชั่วโมง) ที่ค่าอัตราการเขย่าเท่ากับ 0 และ 200 รอบต่อนาที ตามลำดับ ซึ่งมีค่าเท่ากับ 0.17 และ 0.16 ต่อชั่วโมง (ที่ค่าอัตราการเขย่าเท่ากับ 0 และ 100 รอบต่อนาทีคำนวณในช่วงระหว่างชั่วโมงที่ 4 ถึงชั่วโมงที่ 8 ในขณะที่อัตราการเขย่าเท่ากับ 200 รอบต่อนาทีจะคำนวณในช่วงระหว่างชั่วโมงที่ 0 ถึงชั่วโมงที่ 4) ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพของการเปลี่ยนน้ำตาลรีดิวซ์ พบว่าทั้ง 3 ค่าอัตราการเขย่าจะมีค่าใกล้เคียงกันมาก ซึ่ง

มีค่าระหว่างร้อยละ 94.12-94.50 ของน้ำตาลรีดิวซ์เริ่มต้น สำหรับผลได้ของมวลเซลล์ พบว่าที่ค่าอัตราการเขย่าเท่ากับ 200 รอบต่อนาที จะมีค่าสูงที่สุดคือ 0.044 กรัมมวลเซลล์ต่อกรัมน้ำตาลรีดิวซ์ที่ถูกใช้ไป ในขณะที่ค่าอัตราการเขย่าเท่ากับ 100 และ 0 รอบต่อนาที จะมีค่าเท่ากับ 0.042 และ 0.039 กรัมมวลเซลล์ต่อกรัมน้ำตาลรีดิวซ์ที่ถูกใช้ไปตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบผลได้ของเอทานอล พบว่าที่ค่าอัตราการเขย่าเท่ากับ 200 และ 0 รอบต่อนาที จะมีค่าใกล้เคียงกันมากซึ่งมีค่าระหว่าง 0.450-0.456 กรัมเอทานอลต่อกรัมน้ำตาลรีดิวซ์ที่ถูกใช้ไป ส่วนที่ค่าอัตราการเขย่าเท่ากับ 100 รอบต่อนาทีจะมีค่าต่ำที่สุดคือ 0.439 กรัมเอทานอลต่อกรัมน้ำตาลรีดิวซ์ที่ถูกใช้ไป สำหรับค่าอัตราผลผลิตของเอทานอล พบว่าที่ค่าอัตราการเขย่าเท่ากับ 200 และ 0 รอบต่อนาที จะมีค่าใกล้เคียงกันมาก ซึ่งมีค่าระหว่าง 2.65-2.69 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง ส่วนที่ค่าอัตราการเขย่าเท่ากับ 100 รอบต่อนาทีจะมีค่าต่ำที่สุดคือ 2.59 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง

จากการเปรียบเทียบค่าพารามิเตอร์จลนพลศาสตร์ที่ได้จากการหมักเพื่อผลิตเอทานอล พบว่าที่ค่าอัตราการเขย่าเท่ากับ 200 และ 0 รอบต่อนาที แบคทีเรีย *Z. mobilis* TISTR 548 จะมีค่าผลได้ของเอทานอลและค่าอัตราผลผลิตของเอทานอลสูงกว่าที่อัตราการเขย่าเท่ากับ 100 รอบต่อนาที ดังนั้นการเลือกใช้ค่าอัตราการเขย่าเท่ากับ 200 หรือ 0 รอบต่อนาที จึงมีความเหมาะสมที่สุดสำหรับการใช้ในการหมักเพื่อผลิตเอทานอลที่มีน้ำตาลรีดิวซ์เริ่มต้นเท่ากับ 50 กรัมต่อลิตร ที่ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เริ่มต้นเท่ากับ 5.5



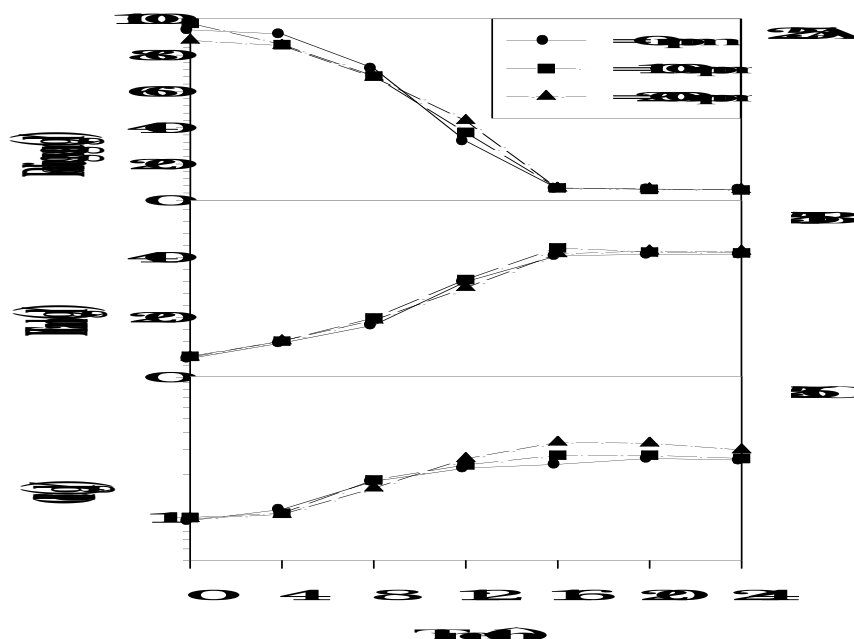
ภาพที่ 20 เปรียบเทียบการหมักเพื่อผลิตเอทานอลโดยแบคทีเรีย *Z. mobilis* TISTR 548 ในอาหารเลี้ยงเชื้อสูตรอุดม ที่มีน้ำตาลรีดิวซ์เริ่มต้นเท่ากับ 50 กรัมต่อลิตร ที่ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เริ่มต้น 5.5 ที่อัตราการเขย่า 0 100 และ 200 รอบต่อนาที

4.2.10.2 ความเข้มข้นของน้ำตาลรีดิวซ์เท่ากับ 100 กรัมต่อลิตร และอัตราการเขย่าเท่ากับ 0 100 และ 200 รอบต่อนาที

จากการทดลอง พบว่าแบคทีเรีย *Z. mobilis* TISTR 548 สามารถที่จะใช้น้ำตาลรีดิวซ์ของทุกค่าอัตราการเขย่าได้ภายใน 16 ชั่วโมงแรกของการหมัก (ภาพที่ 21A) และหลังจากชั่วโมงที่ 16 พบว่าความเข้มข้นของน้ำตาลรีดิวซ์จะมีค่าลดลงเพียงเล็กน้อยและมีค่าคงที่ตลอดระยะเวลาของการหมัก สำหรับความเข้มข้นต่ำสุดของน้ำตาลรีดิวซ์ที่วัดได้จากการหมักที่อัตราการเขย่าเท่ากับ 0 100 และ 200 รอบต่อนาที มีค่าเท่ากับ 6.51 6.83 และ 6.60 กรัมต่อลิตรตามลำดับ ที่ระยะเวลาของการหมักเท่ากันคือ 16 ชั่วโมง สำหรับความเข้มข้นของเอทานอลที่ผลิตได้ พบว่าในช่วงระหว่างชั่วโมงที่ 0 ถึงชั่วโมงที่ 8 ความเข้มข้นของเอทานอลจะมีค่าเพิ่มสูงขึ้นเพียงเล็กน้อยของทุกค่าอัตราการเขย่า แต่หลังจากชั่วโมงที่ 8 พบว่าการผลิตเอทานอลจะเกิดขึ้นอย่างรวดเร็วจนกระทั่งถึงชั่วโมงที่ 16 ซึ่งจะมีค่าความเข้มข้นของเอทานอลสูงที่สุด (ภาพที่ 21B) และหลังจากชั่วโมงที่ 16 พบว่าความเข้มข้นของเอทานอลจะมีค่าคงที่ตลอดระยะเวลาของการหมัก สำหรับความเข้มข้นสูงสุดของเอทานอลที่ผลิตได้จากการหมักที่อัตราการเขย่าเท่ากับ 0 100 และ 200 รอบต่อนาที มีค่าเท่ากับ 40.50 43.13 และ 41.10 กรัมต่อลิตรตามลำดับ สำหรับความเข้มข้นของมวลเซลล์ที่ผลิตได้ พบว่าในชั่วโมงที่ 0 ถึงชั่วโมงที่ 4 แบคทีเรียจะมีการเจริญเติบโตค่อนข้างต่ำ แต่หลังจากชั่วโมงที่ 4 พบว่าทุกค่าอัตราการเขย่าจะมีความเข้มข้นของมวลเซลล์เพิ่มสูงขึ้นใกล้เคียงกันจนกระทั่งถึงชั่วโมงที่ 16 (ภาพที่ 21C) ซึ่งหลังจากชั่วโมงที่ 16 พบว่าความเข้มข้นของมวลเซลล์จะมีค่าลดลงและคงที่ตลอดระยะเวลาของการหมัก สำหรับความเข้มข้นสูงสุดของมวลเซลล์ที่ผลิตได้จากการหมักที่อัตราการเขย่าเท่ากับ 0 100 และ 200 รอบต่อนาที มีค่าเท่ากับ 2.37 2.75 และ 3.39 กรัมต่อลิตรตามลำดับ

เมื่อเปรียบเทียบค่าพารามิเตอร์จลนพลศาสตร์ที่ได้จากการหมักเพื่อผลิตเอทานอล พบว่าแบคทีเรีย *Z. mobilis* TISTR 548 จะมีการเจริญเติบโตได้ค่อนข้างต่ำในช่วงระหว่างชั่วโมงที่ 0 ถึงชั่วโมงที่ 4 ซึ่งเป็นระยะพักตัวของแบคทีเรีย เมื่อเปรียบเทียบค่าอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ พบว่าที่ค่าอัตราการเขย่าเท่ากับ 100 รอบต่อนาที จะมีค่าสูงกว่า (0.14 ต่อชั่วโมง) ที่ค่าอัตราการเขย่าเท่ากับ 0 และ 200 รอบต่อนาที ซึ่งมีค่าเท่ากันคือ 0.11 ต่อชั่วโมง (ทั้ง 3 ค่าคำนวณในช่วงระหว่างชั่วโมงที่ 4 ถึงชั่วโมงที่ 8) เมื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพของการเปลี่ยนน้ำตาลรีดิวซ์ พบว่าที่ค่าอัตราการเขย่าเท่ากับ 100 รอบต่อนาที จะมีค่าสูงที่สุดคือร้อยละ 93.49 ของน้ำตาลรีดิวซ์เริ่มต้น สำหรับที่ค่าอัตราการเขย่าอื่น ๆ จะมีค่าระหว่างร้อยละ 93.04-93.17 ของน้ำตาลรีดิวซ์เริ่มต้น สำหรับผลได้ของมวลเซลล์ พบว่าที่ค่าอัตราการเขย่าเท่ากับ 200 รอบต่อนาที จะมีค่าสูงที่สุดคือ 0.036 กรัมมวลเซลล์ต่อกรัมน้ำตาลรีดิวซ์ที่ถูกใช้ไป ในขณะที่ค่าอัตราการเขย่าเท่ากับ 100 และ 0 รอบต่อนาที จะมีค่าเท่ากับ 0.030 และ 0.025 กรัมมวลเซลล์ต่อกรัมน้ำตาลรีดิวซ์ที่ถูกใช้ไปตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบผลได้ของเอทานอล พบว่าที่ค่าอัตราการเขย่าเท่ากับ 100 รอบต่อนาที จะมีค่าสูงที่สุดคือ 0.463 กรัมเอทานอลต่อกรัมน้ำตาลรีดิวซ์ที่ถูกใช้ไป ส่วนที่ค่าอัตราการเขย่าอื่น ๆ จะมีค่าระหว่าง 0.433-0.440 กรัมเอทานอลต่อกรัมน้ำตาลรีดิวซ์ที่ถูกใช้ไป เมื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพของผลได้ของเอทานอล พบว่าที่ค่าอัตราการเขย่าเท่ากับ 100 รอบต่อนาที จะมีค่าสูงที่สุดคือร้อยละ 90.78 ของค่าที่ได้ตามทฤษฎี แต่สำหรับที่ค่าอัตราการเขย่าอื่น ๆ จะมีค่าระหว่างร้อยละ 84.90-86.27 ของค่าที่ได้ตามทฤษฎี สำหรับค่าอัตราผลผลิตของเอทานอล พบว่าที่ค่าอัตราการเขย่าเท่ากับ 100 รอบต่อนาที จะมีค่าสูงที่สุดคือ 2.70 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง ส่วนที่ค่าอัตราการเขย่าอื่น ๆ จะมีค่าระหว่าง 2.53-2.57 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง

จากการเปรียบเทียบค่าพารามิเตอร์จลนพลศาสตร์ที่ได้จากการหมักเพื่อผลิตเอทานอล พบว่าที่ค่าอัตราการเขย่าเท่ากับ 100 รอบต่อนาที แบคทีเรีย *Z. mobilis* TISTR 548 จะมีค่าผลได้ของเอทานอล และค่าอัตราผลผลิตของเอทานอลสูงกว่าที่ค่าอัตราการเขย่าอื่น ๆ ดังนั้นการเลือกใช้ค่าอัตราการเขย่าเท่ากับ 100 รอบต่อนาที จึงมีความเหมาะสมที่สุดสำหรับการหมักเพื่อผลิตเอทานอลที่มีน้ำตาลรีดิวซ์เริ่มต้นเท่ากับ 100 กรัมต่อลิตร ที่ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เริ่มต้นเท่ากับ 5.5



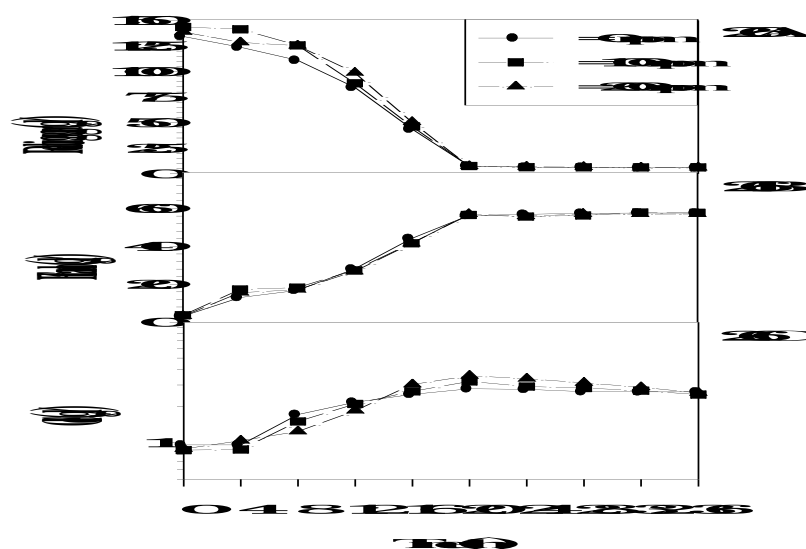
ภาพที่ 21 เปรียบเทียบการหมักเพื่อผลิตเอทานอลโดยแบคทีเรีย *Z. mobilis* TISTR 548 ในอาหารเลี้ยงเชื้อสูตรอุดม ที่มีน้ำตาลรีดิวซ์เริ่มต้นเท่ากับ 100 กรัมต่อลิตร ที่ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เริ่มต้น 5.5 ที่อัตราการเขย่า 0 100 และ 200 รอบต่อนาที

4.2.10.3 ความเข้มข้นของน้ำตาลรีดิวซ์เท่ากับ 150 กรัมต่อลิตร และอัตราการเขย่าเท่ากับ 0 100 และ 200 รอบต่อนาที

จากการทดลอง พบว่าแบคทีเรีย *Z. mobilis* TISTR 548 สามารถที่จะใช้น้ำตาล รีดิวซ์ของทุกค่าอัตราการเขย่าได้ภายใน 20 ชั่วโมงแรกของการหมัก (ภาพที่ 22A) และหลังจากชั่วโมงที่ 20 พบว่าความเข้มข้นของน้ำตาลรีดิวซ์จะเริ่มมีค่าคงที่ตลอดระยะเวลาของการหมัก สำหรับความเข้มข้นต่ำสุดของน้ำตาลรีดิวซ์ที่วัดได้จากการหมักที่อัตราการเขย่าเท่ากับ 0 100 และ 200 รอบต่อนาที มีค่าเท่ากับ 7.68 7.68 และ 7.41 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ ที่ระยะเวลาของการหมักเท่ากันคือ 20 ชั่วโมง สำหรับความเข้มข้นของเอทานอลที่ผลิตได้ พบว่าในช่วงระหว่างชั่วโมงที่ 0 ถึงชั่วโมงที่ 8 การผลิตจะเกิดขึ้นเพียงเล็กน้อย แต่หลังจากชั่วโมงที่ 8 พบว่าทุกค่าอัตราการเขย่าจะมีความเข้มข้นของเอทานอลเพิ่มสูงขึ้นอย่างต่อเนื่องจนกระทั่งถึงชั่วโมงที่ 20 (ภาพที่ 22B) ซึ่งหลังจากชั่วโมงที่ 20 พบว่าความเข้มข้นของเอทานอลจะมีค่าคงและคงที่ตลอดระยะเวลาของการหมัก สำหรับความเข้มข้นสูงสุดของเอทานอลที่ผลิตได้จากการหมักที่อัตราการเขย่าเท่ากับ 0 100 และ 200 รอบต่อนาที มีค่าเท่ากับ 56.27 56.55 และ 56.99 กรัมต่อลิตรตามลำดับ สำหรับความเข้มข้นของมวลเซลล์ที่ผลิตได้ พบว่าในช่วงระหว่างชั่วโมงที่ 0 ถึงชั่วโมงที่ 4 แบคทีเรียจะมีการเจริญเติบโตค่อนข้างต่ำ แต่หลังจากชั่วโมงที่ 4 พบว่าทุกค่าอัตราการ

เข่าจะมีมวลเซลล์เพิ่มสูงขึ้นใกล้เคียงกันจนกระทั่งชั่วโมงที่ 20 (ภาพที่ 22C) ซึ่งหลังจากชั่วโมงที่ 20 พบว่าความเข้มข้นของมวลเซลล์จะมีค่าลดลงและคงที่ตลอดระยะเวลาของการหมัก สำหรับความเข้มข้นสูงสุดของมวลเซลล์ที่ผลิตได้จากการหมักที่อัตราการเขย่าเท่ากับ 0 100 และ 200 รอบต่อนาที มีค่าเท่ากับ 2.79 3.21 และ 3.57 กรัมต่อลิตรตามลำดับ

เมื่อเปรียบเทียบค่าพารามิเตอร์จลนพลศาสตร์ที่ได้จากการหมักเพื่อผลิตเอทานอล พบว่าแบคทีเรีย *Z. mobilis* TISTR 548 จะมีการเจริญเติบโตได้ค่อนข้างต่ำในช่วงระหว่างชั่วโมงที่ 0 ถึง 4 ซึ่งเป็นระยะพักตัวของแบคทีเรีย เมื่อเปรียบเทียบค่าอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ พบว่าที่ค่าอัตราการเขย่าเท่ากับ 0 และ 100 รอบต่อนาที จะมีค่าใกล้เคียงกันระหว่าง 0.13-0.14 ต่อชั่วโมง (ทั้ง 2 ค่าคำนวณในช่วงระหว่างชั่วโมงที่ 4 ถึงชั่วโมงที่ 8) ส่วนที่ค่าอัตราการเขย่าเท่ากับ 200 รอบต่อนาที จะมีค่าเท่ากับ 0.11 ต่อชั่วโมง (คำนวณในช่วงระหว่างชั่วโมงที่ 12 ถึงชั่วโมงที่ 16) เมื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพของการเปลี่ยนน้ำตาลรีดิวซ์ พบว่าที่ค่าอัตราการเขย่าเท่ากับ 200 รอบต่อนาที จะมีค่าสูงที่สุดคือร้อยละ 95.06 ของน้ำตาลรีดิวซ์เริ่มต้น สำหรับที่ค่าอัตราการเขย่า 0 และ 100 รอบต่อนาที จะมีค่าเท่ากับร้อยละ 94.88 ของน้ำตาลรีดิวซ์เริ่มต้น สำหรับผลได้ของมวลเซลล์ พบว่าที่ค่าอัตราการเขย่าเท่ากับ 200 รอบต่อนาที จะมีค่าสูงที่สุดคือ 0.025 กรัมมวลเซลล์ต่อกรัมน้ำตาลรีดิวซ์ที่ถูกใช้ไปในขณะที่ค่าอัตราการเขย่าเท่ากับ 100 และ 0 รอบต่อนาที จะมีค่าเท่ากับ 0.023 และ 0.020 กรัมมวลเซลล์ต่อกรัมน้ำตาลรีดิวซ์ที่ถูกใช้ไปตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบผลได้ของเอทานอล พบว่าค่าอัตราการเขย่าทั้ง 3 ค่าจะมีค่าใกล้เคียงกัน ซึ่งมีค่าระหว่าง 0.395-0.400 กรัมเอทานอลต่อกรัมน้ำตาลรีดิวซ์ที่ถูกใช้ไป เมื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพของผลได้ของเอทานอล พบว่าที่ค่าอัตราการเขย่าเท่ากับ 200 รอบต่อนาที จะมีค่าสูงที่สุดคือร้อยละ 78.43 ของค่าที่ได้ตามทฤษฎี แต่สำหรับที่ค่าอัตราการเขย่าอื่น ๆ จะมีค่าระหว่างร้อยละ 77.45-77.84 ของค่าที่ได้ตามทฤษฎี สำหรับค่าอัตราผลผลิตของเอทานอล พบว่าค่าอัตราการเขย่าทั้ง 3 ค่ามีค่าใกล้เคียงกันมากซึ่งมีค่าระหว่าง 2.81-2.85 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง



ภาพที่ 22 เปรียบเทียบการหมักเพื่อผลิตเอทานอลโดยแบคทีเรีย *Z. mobilis* TISTR 548 ในอาหารเลี้ยงเชื้อสูตรอุดม ที่มีน้ำตาลรีดิวซ์เริ่มต้นเท่ากับ 150 กรัมต่อลิตร ที่ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เริ่มต้น 5.5 ที่อัตราการเขย่า 0 100 และ 200 รอบต่อนาที

จากการเปรียบเทียบค่าพารามิเตอร์จลนพลศาสตร์ที่ได้จากการหมักเพื่อผลิตเอทานอล พบว่าค่าอัตราการเข้าทั้ง 3 ค่าจะมีผลได้ของเอทานอล และค่าอัตราผลผลิตของเอทานอลใกล้เคียงกันมาก ดังนั้นสามารถที่จะเลือกใช้ค่าอัตราการเข้าเท่ากับ 0 100 หรือ 200 รอบต่อนาที สำหรับการหมักเพื่อผลิตเอทานอลที่มีน้ำตาลรีดิวซ์เริ่มต้นเท่ากับ 150 กรัมต่อลิตร ที่ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เริ่มต้นเท่ากับ 5.5 ได้

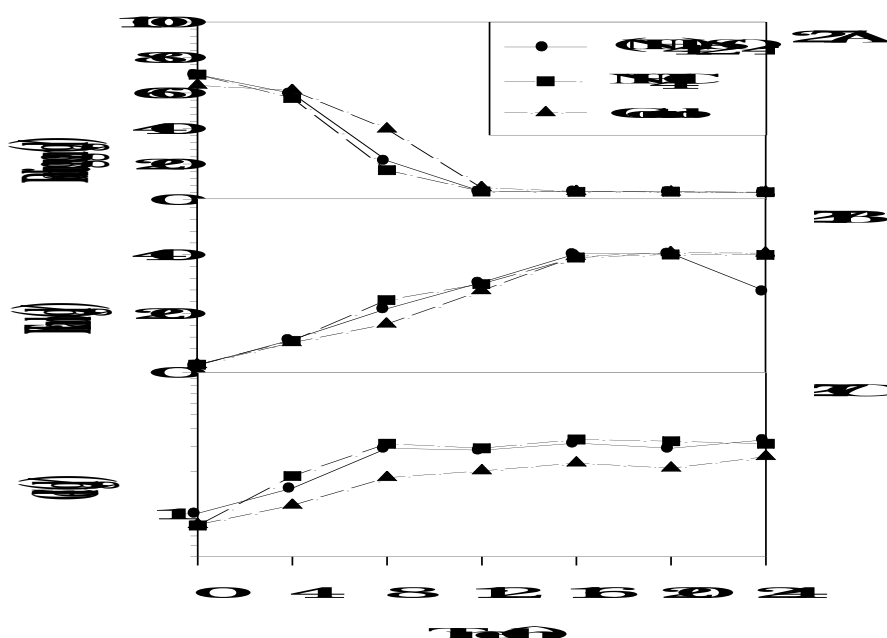
เมื่อเปรียบเทียบสภาวะที่เหมาะสมที่ได้จากการหมักตามข้อ 4.2.10.1-4.2.10.3 พบว่าที่ค่าความเข้มข้นของน้ำตาลรีดิวซ์เริ่มต้นเท่ากับ 100 กรัมต่อลิตร จะมีผลได้ของเอทานอลสูงที่สุดเมื่อใช้อัตราการเข้าเท่ากับ 100 รอบต่อนาที (ตารางที่ 24) ในขณะที่ค่าอัตราผลผลิตของเอทานอล พบว่าที่ค่าความเข้มข้นของน้ำตาลรีดิวซ์เริ่มต้นเท่ากับ 150 กรัมต่อลิตรจะมีค่าสูงที่สุดเมื่อใช้อัตราการเข้าเท่ากับ 200 รอบต่อนาที อย่างไรก็ตามการเลือกใช้ความเข้มข้นของน้ำตาลรีดิวซ์เริ่มต้นเท่ากับ 100 กรัมต่อลิตร และอัตราการเข้าเท่ากับ 100 รอบต่อนาที จะมีความเหมาะสมมากที่สุด ทั้งนี้เพราะจะให้ค่าผลได้ของเอทานอลสูงที่สุด ถึงแม้ว่าจะให้อัตราผลผลิตของเอทานอลต่ำกว่าที่ค่าความเข้มข้นของน้ำตาลรีดิวซ์เริ่มต้นเท่ากับ 150 กรัมต่อลิตรเพียงเล็กน้อยก็ตาม ดังนั้นสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการหมักเพื่อผลิตเอทานอลคือ การใช้น้ำตาลรีดิวซ์เริ่มต้นเท่ากับ 100 กรัมต่อลิตร ที่ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เริ่มต้นเท่ากับ 5.5 และที่อัตราการเข้าเท่ากับ 100 รอบต่อนาที

4.3 การศึกษาหาแหล่งไนโตรเจนที่เหมาะสมสำหรับการหมักเพื่อผลิตเอทานอลในอาหารเลี้ยงเชื้อสูตรปรับค่าในระดับขวดเย้า ขนาด 500 มิลลิลิตร

จากการทดลอง พบว่าแบคทีเรีย *Z. mobilis* TISTR 548 สามารถที่จะใช้น้ำตาลรีดิวซ์ของอาหารเลี้ยงเชื้อที่เติมเฉพาะ $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ หรือ NH_4Cl ได้ดีกว่าอาหารเลี้ยงเชื้อที่ไม่เติมแหล่งไนโตรเจน (ภาพที่ 23A) อย่างไรก็ตามอาหารเลี้ยงเชื้อทั้ง 3 สูตรจะมีความเข้มข้นของน้ำตาลรีดิวซ์ลดลงในช่วงเวลาเดียวกันคือตั้งแต่ชั่วโมงที่ 0 ถึงชั่วโมงที่ 16 ของการหมัก ซึ่งหลังจากชั่วโมงที่ 16 พบว่าน้ำตาลรีดิวซ์จะมีค่าลดลงเพียงเล็กน้อยและคงที่ตลอดระยะเวลาของการหมัก สำหรับความเข้มข้นต่ำสุดของน้ำตาลรีดิวซ์ที่วัดได้จากการหมักของอาหารเลี้ยงเชื้อสูตรที่เติมเฉพาะ $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ NH_4Cl และไม่เติมแหล่งไนโตรเจน มีค่าเท่ากับ 4.60 4.33 และ 4.51 กรัมต่อลิตรตามลำดับที่ระยะเวลาของการหมักเท่ากันคือ 16 ชั่วโมง สำหรับความเข้มข้นของเอทานอลที่ผลิตได้ พบว่าความเข้มข้นของเอทานอลของอาหารเลี้ยงเชื้อที่เติมเฉพาะ $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ หรือ NH_4Cl จะมีค่าเพิ่มสูงขึ้นใกล้เคียงกับอาหารเลี้ยงเชื้อที่ไม่เติมแหล่งไนโตรเจน (ภาพที่ 23B) ซึ่งความเข้มข้นของเอทานอลของอาหารเลี้ยงเชื้อทั้ง 3 สูตรจะมีค่าเพิ่มสูงขึ้นอย่างต่อเนื่องตั้งแต่ชั่วโมงที่ 0 จนกระทั่งถึงชั่วโมงที่ 16 ซึ่งหลังจากชั่วโมงที่ 16 พบว่าการผลิตเอทานอลจะมีค่าคงที่และลดลงตลอดระยะเวลาของการหมัก สำหรับความเข้มข้นสูงสุดของเอทานอลที่ผลิตได้จากการหมักของอาหารเลี้ยงเชื้อสูตรที่เติมเฉพาะ $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ NH_4Cl และไม่เติมแหล่งไนโตรเจน มีค่าเท่ากับ 39.27 40.04 และ 38.44 กรัมต่อลิตรตามลำดับ สำหรับความเข้มข้นของมวลเซลล์ที่ผลิตได้ พบว่าอาหารเลี้ยงเชื้อสูตรที่เติมเฉพาะ NH_4Cl จะมีความเข้มข้นของมวลเซลล์เพิ่มสูงขึ้นอย่างรวดเร็วภายใน 4 ชั่วโมงแรกของการหมัก ในขณะที่อาหารเลี้ยงเชื้อที่เติมเฉพาะ $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ และไม่เติมแหล่งไนโตรเจน จะมีความเข้มข้นของมวลเซลล์เพิ่มสูงขึ้นเพียงเล็กน้อยภายใน 4 ชั่วโมงแรก (ภาพที่ 23C) อย่างไรก็ตามหลังจากชั่วโมงที่ 4 พบว่าอาหารเลี้ยงเชื้อสูตรที่เติมเฉพาะ $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ และ NH_4Cl จะมีความเข้มข้นของมวลเซลล์เพิ่มสูงขึ้นอย่างรวดเร็วและเร็วกว่าอาหารเลี้ยงเชื้อที่ไม่เติมแหล่งไนโตรเจนจนกระทั่งถึงชั่วโมงที่ 8 ซึ่งหลังจากชั่วโมงที่ 8 พบว่าความเข้มข้นของมวลเซลล์ของอาหารเลี้ยงเชื้อทั้ง 3 สูตรจะมีค่าคงที่ตลอดระยะเวลาของการหมัก โดยที่ความเข้มข้นสูงสุดของมวลเซลล์ของ

อาหารเลี้ยงเชื้อสูตรที่เติมเฉพาะ $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ NH_4Cl และไม่เติมแหล่งไนโตรเจน มีค่าเท่ากับ 3.15 3.34 และ 2.28 กรัมต่อลิตรตามลำดับ

เมื่อเปรียบเทียบค่าพารามิเตอร์จลนพลศาสตร์ที่ได้จากการหมักเพื่อผลิตเอทานอล พบว่าอาหารเลี้ยงเชื้อที่เติมเฉพาะ $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ และไม่เติมแหล่งไนโตรเจน แบคทีเรียจะมีช่วงระยะพักตัวภายใน 4 ชั่วโมงแรก ในขณะที่อาหารเลี้ยงเชื้อที่เติมเฉพาะ NH_4Cl แบคทีเรียจะมีการเจริญเติบโตอย่างรวดเร็วภายใน 4 ชั่วโมงแรก เมื่อเปรียบเทียบค่าอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ พบว่าอาหารเลี้ยงเชื้อที่เติมเฉพาะ NH_4Cl จะมีค่าเท่ากับ 0.20 ต่อชั่วโมง (คำนวณในช่วงระหว่างชั่วโมงที่ 0 ถึงชั่วโมงที่ 4) สูงกว่าอาหารเลี้ยงเชื้อที่เติมเฉพาะ $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ และไม่เติมแหล่งไนโตรเจนซึ่งมีค่าเท่ากับ 0.16 และ 0.11 ต่อชั่วโมง (คำนวณในช่วงระหว่างชั่วโมงที่ 4 ถึงชั่วโมงที่ 8) ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพของการเปลี่ยนน้ำตาลรีดิวซ์ พบว่าอาหารเลี้ยงเชื้อทั้ง 3 สูตรจะมีความสามารถในการเปลี่ยนน้ำตาลรีดิวซ์ได้ใกล้เคียงกัน สำหรับผลได้ของมวลเซลล์ พบว่าอาหารเลี้ยงเชื้อที่เติมเฉพาะ $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ และ NH_4Cl จะมีค่าใกล้เคียงกันซึ่งมีค่าระหว่าง 0.033-0.035 กรัมมวลเซลล์ต่อกรัมน้ำตาลรีดิวซ์ที่ถูกใช้ไปสูงกว่าอาหารเลี้ยงเชื้อไม่เติมแหล่งไนโตรเจนที่มีค่าต่ำที่สุดคือ 0.024 กรัมมวลเซลล์ต่อกรัมน้ำตาลรีดิวซ์ที่ถูกใช้ไป เมื่อเปรียบเทียบผลได้ของเอทานอล พบว่าอาหารเลี้ยงเชื้อที่เติมเฉพาะ NH_4Cl จะมีค่าสูงที่สุดคือ 0.419 กรัมเอทานอลต่อกรัมน้ำตาลรีดิวซ์ที่ถูกใช้ไปสูงกว่าอาหารเลี้ยงเชื้อที่เติมเฉพาะ $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ และไม่เติมแหล่งไนโตรเจนซึ่งมีค่าระหว่าง 0.403-0.412 กรัมเอทานอลต่อกรัมน้ำตาลรีดิวซ์ที่ถูกใช้ไป สำหรับค่าอัตราผลผลิตของเอทานอล พบว่าอาหารเลี้ยงเชื้อที่เติมเฉพาะ NH_4Cl จะมีค่าสูงที่สุดคือ 2.50 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง สูงกว่าอาหารเลี้ยงเชื้อที่เติมเฉพาะ $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ และไม่เติมแหล่งไนโตรเจนซึ่งมีค่าระหว่าง 2.40-2.45 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง



ภาพที่ 23 เปรียบเทียบการหมักเพื่อผลิตเอทานอลโดยแบคทีเรีย *Z. mobilis* TISTR 548 ในอาหารเลี้ยงเชื้อสูตรปรับค่าที่มีน้ำตาลรีดิวซ์เริ่มต้นเท่ากับ 100 กรัมต่อลิตร ที่ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เริ่มต้นเท่ากับ 5.5 โดยเติมเฉพาะ $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ NH_4Cl และไม่เติมแหล่งไนโตรเจน (ชุดควบคุม) และที่อัตราการเขย่า 100 รอบต่อนาที

จากการเปรียบเทียบค่าพารามิเตอร์จลนพลศาสตร์ที่ได้จากการหมักเพื่อผลิตเอทานอล พบว่าอาหารเลี้ยงเชื้อที่เติมเฉพาะ NH_4Cl แบคทีเรีย *Z. mobilis* TISTR 548 จะมีค่าผลได้ของเอทานอล และค่าอัตราผลผลิตของเอทานอลสูงกว่าอาหารเลี้ยงเชื้อสูตรอื่น ดังนั้นการเลือกใช้ NH_4Cl ในอาหารเลี้ยงเชื้อสูตรปรับค่าจึงมีความเหมาะสมที่สุด

4.4 การศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการหมักเพื่อผลิตเอทานอลในอาหารเลี้ยงเชื้อสูตรปรับค่าในถังปฏิกรณ์ชีวภาพแบบถังกวน ขนาด 5 ลิตร

4.4.1 การศึกษาการหมักแบบกะ

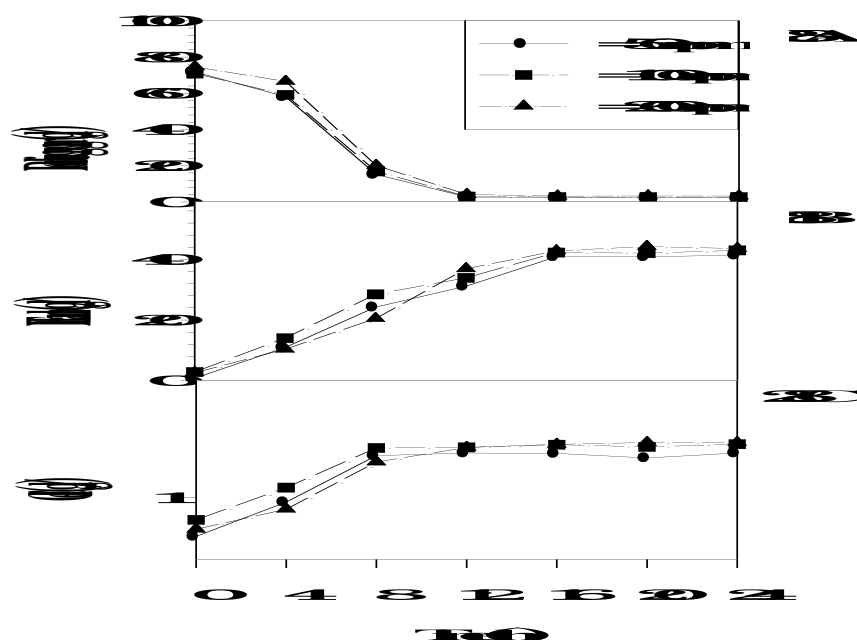
4.4.1.1 การศึกษาความเร็วรอบของใบกวนที่เหมาะสม

จากการทดลอง พบว่าแบคทีเรีย *Z. mobilis* TISTR 548 สามารถที่จะใช้น้ำตาลรีดิวซ์ที่ความเร็วรอบของใบกวนทั้ง 3 ค่าได้อย่างรวดเร็วภายใน 16 ชั่วโมงแรกของการหมัก (ภาพที่ 24A) ซึ่งหลังจากชั่วโมงที่ 16 พบว่าน้ำตาลรีดิวซ์ของทั้ง 3 ค่าความเร็วรอบของใบกวนจะมีค่าคงที่ตลอดระยะเวลาของการหมัก สำหรับความเข้มข้นต่ำสุดของน้ำตาลรีดิวซ์ที่วัดได้จากการหมักที่ความเร็วรอบของใบกวนเท่ากับ 50 100 และ 200 รอบต่อนาที มีค่าเท่ากับ 2.45 2.65 และ 3.16 กรัมต่อลิตรตามลำดับ ที่ระยะเวลาของการหมักเท่ากันคือ 16 ชั่วโมง สำหรับความเข้มข้นของเอทานอลที่ผลิตได้ พบว่าความเข้มข้นของเอทานอลจะมีค่าเพิ่มสูงขึ้นอย่างต่อเนื่องตั้งแต่ชั่วโมงที่ 0 ถึงชั่วโมงที่ 16 (ภาพที่ 24B) ซึ่งหลังจากชั่วโมงที่ 16 พบว่าการใช้ความเร็วรอบของใบกวนทั้ง 3 ค่าจะมีความเข้มข้นของเอทานอลคงที่ตลอดระยะเวลาของการหมัก สำหรับความเข้มข้นสูงสุดของเอทานอลที่ผลิตได้จากการหมักที่ความเร็วรอบของใบกวนเท่ากับ 50 100 และ 200 รอบต่อนาที มีค่าเท่ากับ 40.88 42.27 และ 42.81 กรัมต่อลิตรตามลำดับ สำหรับความเข้มข้นของมวลเซลล์ที่ผลิตได้ พบว่าการใช้ความเร็วรอบของใบกวนทั้ง 3 ค่าจะมีความเข้มข้นของมวลเซลล์เพิ่มสูงขึ้นอย่างรวดเร็วภายใน 8 ชั่วโมงแรกของการหมัก (ภาพที่ 24C) ซึ่งหลังจากชั่วโมงที่ 8 พบว่าความเข้มข้นของมวลเซลล์ของทั้ง 3 ค่าความเร็วรอบของใบกวนจะมีค่าเพิ่มสูงขึ้นอีกเพียงเล็กน้อยและคงที่ตลอดระยะเวลาของการหมัก สำหรับความเข้มข้นสูงสุดของมวลเซลล์ที่ผลิตได้ที่ความเร็วรอบของใบกวนเท่ากับ 50 100 และ 200 รอบต่อนาที มีค่าเท่ากับ 2.40 2.82 และ 2.84 กรัมต่อลิตรตามลำดับ

เมื่อเปรียบเทียบค่าพารามิเตอร์จลนพลศาสตร์ที่ได้จากการหมักเพื่อผลิตเอทานอล พบว่าแบคทีเรีย *Z. mobilis* TISTR 548 จะมีการเจริญเติบโตอย่างรวดเร็วภายใน 8 ชั่วโมงแรก โดยที่การใช้ความเร็วรอบของใบกวนเท่ากับ 200 รอบต่อนาที แบคทีเรียจะมีระยะพักตัวในช่วงระหว่าง 4 ชั่วโมงแรกของการหมัก แต่ที่ความเร็วรอบของใบกวนเท่ากับ 50 และ 100 รอบต่อนาที จะไม่พบระยะพักตัว เมื่อเปรียบเทียบค่าอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะพบว่าที่ค่าความเร็วรอบของใบกวนเท่ากับ 50 และ 200 รอบต่อนาที จะมีค่าเท่ากันและมีค่าสูงกว่า (0.23 ต่อชั่วโมง) ที่ค่าความเร็วรอบของใบกวนเท่ากับ 100 รอบต่อนาที (0.20 ต่อชั่วโมง) (ทั้ง 3 ค่าคำนวณในช่วงระหว่างชั่วโมงที่ 4 ถึงชั่วโมงที่ 8) สำหรับประสิทธิภาพของการเปลี่ยนน้ำตาลรีดิวซ์ พบว่าที่ความเร็วรอบของใบกวนเท่ากับ 50 รอบต่อนาที จะมีค่าสูงกว่าที่ค่าความเร็วรอบของใบกวนเท่ากับ 100 และ 200 รอบต่อนาที สำหรับผลได้ของมวลเซลล์ พบว่าที่ค่าความเร็วรอบของใบกวนเท่ากับ 100 และ 200 รอบต่อนาที มีค่าใกล้เคียงกัน (0.029-0.030 กรัมมวลเซลล์ต่อกรัมน้ำตาลรีดิวซ์ที่ถูกใช้ไป) สูงกว่าที่ค่าความเร็วรอบของใบกวนเท่ากับ 50 รอบต่อนาที (0.025 กรัมมวลเซลล์ต่อกรัมน้ำตาลรีดิวซ์ที่ถูกใช้ไป) สำหรับผลได้ของเอทานอล พบว่าที่ค่าความเร็วรอบของใบกวนเท่ากับ 100 และ 200 รอบต่อนาที จะมีค่าใกล้เคียงกันมาก (0.442-0.444 กรัมเอทานอลต่อกรัม

น้ำตาลรีดิวซ์ที่ถูกใช้ไป) สูงกว่าที่ค่าความเร็วรอบของใบกวนเท่ากับ 50 รอบต่อนาที (0.419 กรัมเอทานอลต่อกรัม น้ำตาลรีดิวซ์ที่ถูกใช้ไป) สำหรับค่าอัตราผลผลิตของเอทานอล พบว่าที่ความเร็วรอบของใบกวนเท่ากับ 100 และ 200 รอบต่อนาทีจะมีค่าใกล้เคียงกันมากและมีค่าสูงกว่าที่ความเร็วรอบของใบกวนเท่ากับ 50 รอบต่อนาที

จากการเปรียบเทียบค่าพารามิเตอร์จลนพลศาสตร์ที่ได้จากการหมักเพื่อผลิตเอทานอล พบว่าที่ค่าความเร็วรอบของใบกวนเท่ากับ 100 และ 200 รอบต่อนาที แบคทีเรีย *Z. mobilis* TISTR 548 จะมีค่าผลได้ของเอทานอล และค่าอัตราผลผลิตของเอทานอลสูงกว่าที่ค่าความเร็วรอบของใบกวนเท่ากับ 50 รอบต่อนาที อย่างไรก็ตาม เพื่อเป็นการประหยัดพลังงานในการกวน การเลือกใช้ค่าความเร็วรอบของใบกวนเท่ากับ 100 รอบต่อนาทีจึงมีความเหมาะสมมากกว่าที่ค่าความเร็วรอบของใบกวนเท่ากับ 200 รอบต่อนาที ดังนั้นการเลือกใช้ความเร็วรอบของใบกวนเท่ากับ 100 รอบต่อนาที จึงมีความเหมาะสมมากที่สุดสำหรับการหมักเพื่อผลิตเอทานอล



ภาพที่ 24 เปรียบเทียบการหมักเพื่อผลิตเอทานอลโดยแบคทีเรีย *Z. mobilis* TISTR 548 ในอาหารเลี้ยงเชื้อสูตรปรับค่า ในถังปฏิกรณ์ชีวภาพแบบถังกวน ขนาด 5 ลิตร ที่ความเร็วรอบของใบกวนเท่ากับ 50 100 และ 200 รอบต่อนาที

4.4.1.2 การศึกษาปริมาณกล้ำเชื้อเริ่มต้นที่เหมาะสม

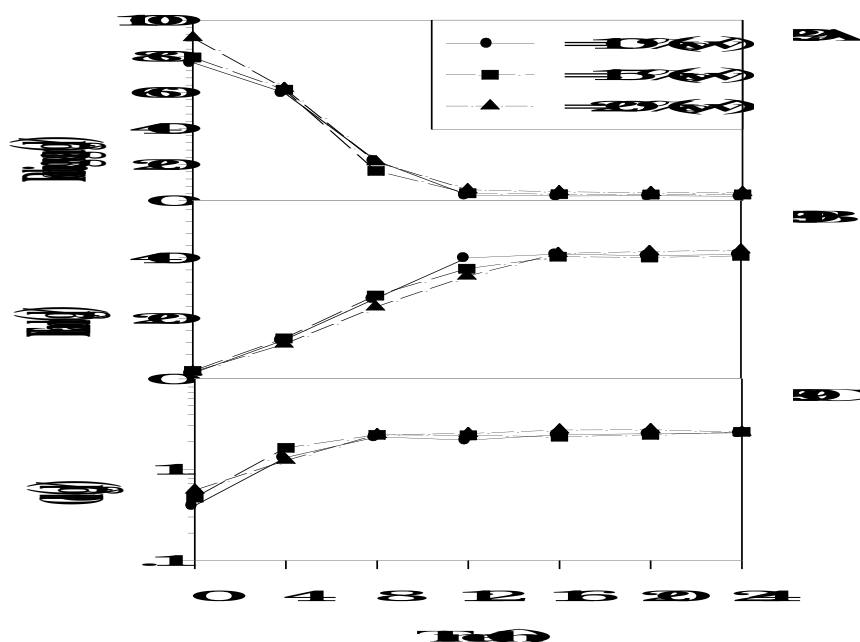
จากการทดลอง พบว่าแบคทีเรีย *Z. mobilis* TISTR 548 สามารถที่จะใช้น้ำตาลรีดิวซ์ของอาหารเลี้ยงเชื้อที่เติมกล้ำเชื้อเริ่มต้นเท่ากับร้อยละ 10 15 และ 20 (โดยปริมาตร) ได้อย่างรวดเร็วภายใน 12 ชั่วโมงแรกของการหมัก (ภาพที่ 25A) ซึ่งหลังจากชั่วโมงที่ 12 พบว่าความเข้มข้นของน้ำตาลรีดิวซ์ของทั้ง 3 ค่าปริมาณกล้ำเชื้อเริ่มต้นจะมีค่าคงที่ตลอดระยะเวลาของการหมัก สำหรับความเข้มข้นต่ำสุดของน้ำตาลรีดิวซ์ที่วัดได้จากการหมักเมื่อใช้ปริมาณกล้ำเชื้อเริ่มต้นเท่ากับร้อยละ 10 15 และ 20 (โดยปริมาตร) มีค่าเท่ากับ 3.03 3.75 และ 4.88 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ ที่ระยะเวลาของการหมักนาน 12 16 และ 16 ชั่วโมง ตามลำดับ สำหรับความเข้มข้นของเอทานอลที่

ผลิตได้ พบว่าการใช้ปริมาณกล้าเชื้อเริ่มต้นทั้ง 3 ค่าจะผลิตเอทานอลได้อย่างต่อเนื่องตั้งแต่ชั่วโมงที่ 0-12 ของการหมัก (ภาพที่ 25B) แต่การใช้ปริมาณกล้าเชื้อเริ่มต้นเท่ากับร้อยละ 15 และ 20 (โดยปริมาตร) จะผลิตเอทานอลได้อย่างต่อเนื่องจนกระทั่งถึงชั่วโมงที่ 16 ซึ่งหลังจากชั่วโมงที่ 16 พบว่าความเข้มข้นของเอทานอลของปริมาณกล้าเชื้อเริ่มต้นทั้ง 3 ค่าจะมีค่าคงที่ตลอดระยะเวลาของการหมัก สำหรับความเข้มข้นสูงสุดของเอทานอลที่ผลิตได้จากการหมักเมื่อใช้ปริมาณกล้าเชื้อเริ่มต้นเท่ากับร้อยละ 10 15 และ 20 (โดยปริมาตร) มีค่าเท่ากับ 40.00 40.42 และ 41.44 กรัมต่อลิตรตามลำดับ สำหรับความเข้มข้นของมวลเซลล์ที่ผลิตได้ พบว่าการใช้ปริมาณกล้าเชื้อเริ่มต้นทั้ง 3 ค่าจะทำให้ความเข้มข้นของมวลเซลล์มีค่าเพิ่มสูงขึ้นอย่างรวดเร็วภายใน 4 ชั่วโมงแรกของการหมัก (ภาพที่ 25C) และจะมีค่าเพิ่มสูงขึ้นอีกเพียงเล็กน้อยจนกระทั่งถึงชั่วโมงที่ 8 ซึ่งหลังจากชั่วโมงที่ 8 พบว่าความเข้มข้นของมวลเซลล์ของปริมาณกล้าเชื้อเริ่มต้นทั้ง 3 ค่าจะมีค่าคงที่ตลอดระยะเวลาของการหมัก สำหรับความเข้มข้นสูงสุดของมวลเซลล์ที่ผลิตได้จากการหมักเมื่อใช้ปริมาณกล้าเชื้อเริ่มต้นเท่ากับร้อยละ 10 15 และ 20 (โดยปริมาตร) มีค่าเท่ากับ 2.27 2.41 และ 2.70 กรัมต่อลิตรตามลำดับ

เมื่อเปรียบเทียบค่าพารามิเตอร์จลนพลศาสตร์ที่ได้จากการหมักเพื่อผลิตเอทานอล พบว่าแบคทีเรีย *Z. mobilis* TISTR 548 จะมีการเจริญเติบโตอย่างรวดเร็วภายใน 4 ชั่วโมงแรก โดยไม่มีระยะพักตัว สำหรับค่าอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ พบว่าการใช้ปริมาณกล้าเชื้อเริ่มต้นเท่ากับร้อยละ 10 และ 15 (โดยปริมาตร) จะมีค่าใกล้เคียงกัน (0.30-0.32 ต่อชั่วโมง) สูงกว่าการใช้ปริมาณกล้าเชื้อเริ่มต้นเท่ากับร้อยละ 20 (โดยปริมาตร) ซึ่งมีค่าเท่ากับ 0.19 ต่อชั่วโมง (ทั้ง 3 ค่าคำนวณในช่วงระหว่างชั่วโมงที่ 0 ถึงชั่วโมงที่ 4) เมื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพของการเปลี่ยนน้ำตาลรีดิวซ์ พบว่าการใช้ปริมาณกล้าเชื้อเริ่มต้นเท่ากับร้อยละ 10 และ 15 (โดยปริมาตร) จะมีค่าใกล้เคียงกันระหว่างร้อยละ 96.25-96.97 ของน้ำตาลรีดิวซ์เริ่มต้น สูงกว่า การใช้ปริมาณกล้าเชื้อเริ่มต้นเท่ากับร้อยละ 20 (โดยปริมาตร) ซึ่งมีค่าเท่ากับร้อยละ 95.12 ของน้ำตาลรีดิวซ์เริ่มต้น สำหรับผลได้ของมวลเซลล์ พบว่าการใช้ปริมาณกล้าเชื้อเริ่มต้นเท่ากับร้อยละ 20 (โดยปริมาตร) จะมีค่าสูงกว่า (0.028 กรัมมวลเซลล์ต่อกรัมน้ำตาลรีดิวซ์ที่ถูกใช้ไป) การใช้ปริมาณกล้าเชื้อเริ่มต้นเท่ากับร้อยละ 10 และ 15 (โดยปริมาตร) ซึ่งมีค่าระหว่าง 0.023-0.025 กรัมมวลเซลล์ต่อกรัมน้ำตาลรีดิวซ์ที่ถูกใช้ไป เมื่อเปรียบเทียบผลได้ของเอทานอล พบว่าการใช้ปริมาณกล้าเชื้อเริ่มต้นเท่ากับร้อยละ 20 (โดยปริมาตร) จะมีค่าสูงกว่า (0.436 กรัมเอทานอลต่อกรัมน้ำตาลรีดิวซ์ที่ถูกใช้ไป) การใช้ปริมาณกล้าเชื้อเริ่มต้นเท่ากับร้อยละ 10 และ 15 (โดยปริมาตร) ที่มีค่าระหว่าง 0.412-0.420 กรัมเอทานอลต่อกรัมน้ำตาลรีดิวซ์ที่ถูกใช้ไป รวมทั้งจะมีประสิทธิภาพของผลได้ของเอทานอลสูงกว่าการใช้ปริมาณกล้าเชื้อเริ่มต้นเท่ากับร้อยละ 10 และ 15 (โดยปริมาตร) สำหรับค่าอัตราผลผลิตของเอทานอล พบว่าการใช้ปริมาณกล้าเชื้อเริ่มต้นเท่ากับร้อยละ 10 (โดยปริมาตร) จะมีค่าสูงกว่าการใช้ปริมาณกล้าเชื้อเริ่มต้นเท่ากับร้อยละ 15 และ 20 (โดยปริมาตร)

จากการเปรียบเทียบค่าพารามิเตอร์จลนพลศาสตร์ที่ได้จากการหมักเพื่อผลิตเอทานอล พบว่าการใช้ปริมาณกล้าเชื้อเริ่มต้นเท่ากับร้อยละ 20 (โดยปริมาตร) แบคทีเรีย *Z. mobilis* TISTR 548 จะมีผลได้ของเอทานอลสูงที่สุด อย่างไรก็ตามการใช้ปริมาณกล้าเชื้อเริ่มต้นเท่ากับร้อยละ 10 (โดยปริมาตร) จะให้อัตราผลผลิตของเอทานอลสูงที่สุด และเมื่อเปรียบเทียบค่าผลได้ของเอทานอล พบว่าจะมีค่าสูงไม่แตกต่างกันมาก เพื่อเป็นการลดต้นทุนในการเตรียมปริมาณของกล้าเชื้อเริ่มต้นสามารถที่จะเลือกใช้ปริมาณกล้าเชื้อเริ่มต้นเท่ากับร้อยละ 10 (โดย

ปริมาตร) ได้ซึ่งจะให้ค่าผลได้ของเอทานอลมากเพียงพอ รวมทั้งจะให้อัตราผลผลิตของเอทานอลสูงที่สุด ดังนั้น การเลือกใช้ปริมาณกล้ายเชื้อเริ่มต้นเท่ากับร้อยละ 10 (โดยปริมาตร) จึงมีความเหมาะสมมากที่สุด



ภาพที่ 25 เปรียบเทียบการหมักเพื่อผลิตเอทานอลโดยแบคทีเรีย *Z. mobilis* TISTR 548 ในอาหารเลี้ยงเชื้อ สูตรปรับค่า ในถังปฏิกรณ์ชีวภาพแบบถังกวน ขนาด 5 ลิตร โดยใช้ปริมาณกล้ายเชื้อเริ่มต้นเท่ากับ ร้อยละ 10 15 และ 20 (โดยปริมาตร)

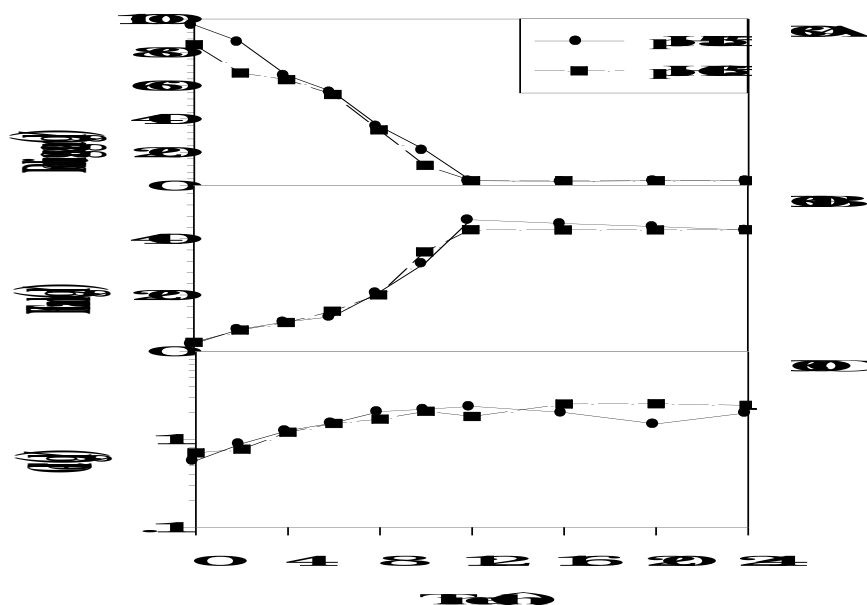
4.4.1.3 การศึกษาการหมักที่สภาวะค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) คงที่

จากการทดลอง พบว่าแบคทีเรีย *Z. mobilis* TISTR 548 สามารถที่จะใช้น้ำตาล ริดิวิซ์ที่ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) คงที่ทั้ง 2 ค่าได้อย่างรวดเร็วภายใน 12 ชั่วโมงแรกของการหมัก (ภาพที่ 26A) ซึ่งหลังจากชั่วโมงที่ 12 พบว่าความเข้มข้นของน้ำตาลริดิวิซ์ที่ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) คงที่ทั้ง 2 ค่า จะมีค่าคงที่ตลอดระยะเวลาของการหมัก สำหรับความเข้มข้นต่ำสุดของน้ำตาลริดิวิซ์ที่วัดได้จากการหมักที่ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) คงที่เท่ากับ 5.5 และ 6.5 มีค่าเท่ากับ 2.84 และ 2.94 กรัมต่อลิตรตามลำดับ ที่ระยะเวลาของการหมักเท่ากันคือ 12 ชั่วโมง สำหรับความเข้มข้นของเอทานอลที่ผลิตได้ พบว่าค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) คงที่ทั้ง 2 ค่าจะมีความเข้มข้นของเอทานอลเพิ่มสูงขึ้นใกล้เคียงกันตั้งแต่ชั่วโมงที่ 0 ถึงชั่วโมงที่ 12 (ภาพที่ 26B) ซึ่งหลังจากชั่วโมงที่ 12 พบว่าความเข้มข้นของเอทานอลของค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) คงที่ทั้ง 2 ค่าจะมีค่าคงที่ตลอดระยะเวลาของการหมัก สำหรับความเข้มข้นสูงสุดของเอทานอลที่วัดได้จากการหมักที่ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) คงที่เท่ากับ 5.5 และ 6.5 มีค่าเท่ากับ 46.73 และ 43.24 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ สำหรับความเข้มข้นของมวลเซลล์ที่ผลิตได้ พบว่าค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) คงที่ทั้ง 2 ค่าจะมีความเข้มข้นของมวลเซลล์เพิ่มขึ้นได้ใกล้เคียงกันตั้งแต่ชั่วโมงที่ 0-12 (ภาพที่ 26C) แต่พบว่าในชั่วโมงที่ 0 ถึงชั่วโมงที่ 2 ที่ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) คงที่ 6.5 จะมีค่าคงที่ แต่หลังจากชั่วโมงที่ 2 พบว่าความเข้มข้นของมวลเซลล์จะมีค่าเพิ่มสูงขึ้นอย่างต่อเนื่องจนกระทั่งถึงชั่วโมงที่ 12 ซึ่งหลังจากชั่วโมงที่ 12 พบว่าความเข้มข้นของมวลเซลล์ของค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) คงที่ทั้ง 2 ค่าจะมีค่าไม่เปลี่ยนแปลงและ

ค่อนข้างคงที่ตลอดระยะเวลาของการหมัก สำหรับความเข้มข้นสูงสุดของมวลเซลล์ที่วัดได้จากการหมักที่ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) คงที่เท่ากับ 5.5 และ 6.5 มีค่าเท่ากับ 2.36 และ 2.07 กรัมต่อลิตรตามลำดับ

เมื่อเปรียบเทียบค่าพารามิเตอร์จลนพลศาสตร์ที่ได้จากการหมักเพื่อผลิตเอทานอล พบว่าที่ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) คงที่เท่ากับ 6.5 แบคทีเรีย *Z. mobilis* TISTR 548 จะมีช่วงระยะพักตัวที่ชั่วโมงที่ 0 ชั่วโมงที่ 2 แต่ที่ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) คงที่เท่ากับ 5.5 แบคทีเรีย *Z. mobilis* TISTR 548 จะมีการเจริญเติบโตอย่างต่อเนื่อง ซึ่งที่ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) คงที่ทั้ง 2 ค่าจะมีค่าอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะใกล้เคียงกันระหว่าง 0.13-0.14 ต่อชั่วโมง (ทั้ง 2 ค่าคำนวณในช่วงระหว่างชั่วโมงที่ 2 ถึงชั่วโมงที่ 8) เมื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพของการเปลี่ยนน้ำตาลรีดิวซ์ พบว่าที่ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) คงที่ทั้ง 2 ค่าจะมีค่าใกล้เคียงกันระหว่างร้อยละ 97.06-97.16 ของน้ำตาลรีดิวซ์เริ่มต้น สำหรับผลได้ของมวลเซลล์ พบว่าที่ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) คงที่เท่ากับ 5.5 จะมีค่าสูงกว่า (0.024 กรัมมวลเซลล์ต่อกรัมน้ำตาลรีดิวซ์ที่ถูกใช้ไป) ที่ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) คงที่เท่ากับ 6.5 (0.021 กรัมมวลเซลล์ต่อกรัมน้ำตาลรีดิวซ์ที่ถูกใช้ไป) เพียงเล็กน้อย เมื่อเปรียบเทียบผลได้ของเอทานอล พบว่าที่ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) คงที่เท่ากับ 5.5 จะมีค่าสูงกว่า (0.481 กรัมเอทานอลต่อกรัมน้ำตาลรีดิวซ์ที่ถูกใช้ไป) ที่ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) คงที่เท่ากับ 6.5 (0.445 กรัมเอทานอลต่อกรัมน้ำตาลรีดิวซ์ที่ถูกใช้ไป) ซึ่งทำให้ประสิทธิภาพของผลได้ของเอทานอลและค่าอัตราผลผลิตของเอทานอลที่ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) คงที่เท่ากับ 5.5 สูงกว่าที่ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) คงที่เท่ากับ 6.5

จากการเปรียบเทียบค่าพารามิเตอร์จลนพลศาสตร์ที่ได้จากการหมักเพื่อผลิตเอทานอล พบว่าที่ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) คงที่เท่ากับ 5.5 แบคทีเรีย *Z. mobilis* TISTR 548 จะมีค่าผลได้ของเอทานอล และค่าอัตราผลผลิตของเอทานอลสูงกว่าที่ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) คงที่เท่ากับ 6.5 ดังนั้นการเลือกใช้ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) คงที่เท่ากับ 5.5 สำหรับการหมักเพื่อผลิตเอทานอล จึงมีความเหมาะสมมากที่สุด



ภาพที่ 26 เปรียบเทียบการหมักเพื่อผลิตเอทานอลโดยแบคทีเรีย *Z. mobilis* TISTR 548 ในอาหารเลี้ยงเชื้อสูตรปรับต่ำ ในถังปฏิกรณ์ชีวภาพแบบถังกวน ขนาด 5 ลิตร โดยการควบคุมค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) คงที่เท่ากับ 5.5 และ 6.5 โดยใช้ปริมาณกล้ายเชื้อเริ่มต้นเท่ากับร้อยละ 10 (โดยปริมาตร)

4.4.2 การศึกษาการหมักแบบกึ่งกะ

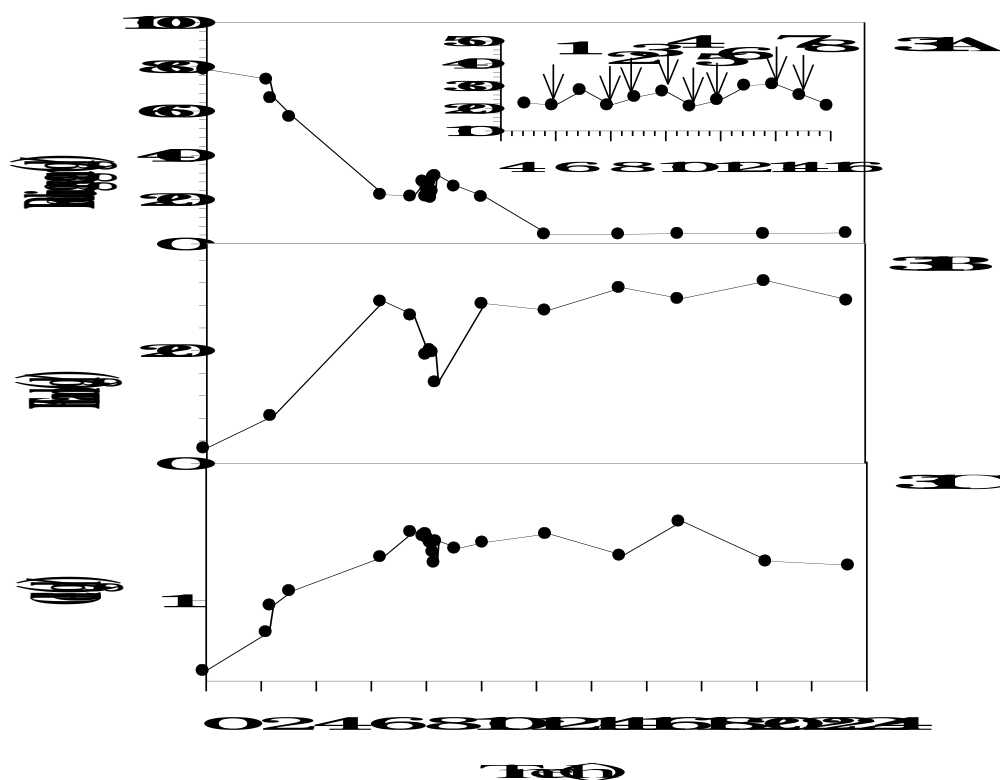
4.4.2.1 การเติมอาหารเลี้ยงเชื้อสูตรปรับต่ำ ที่มีน้ำตาลรีดิวซ์เท่ากับ 75 กรัมต่อลิตร ปริมาตร 250 มิลลิลิตร จำนวน 8 ครั้ง

จากการทดลอง พบว่าแบคทีเรีย *Z. mobilis* TISTR 548 สามารถที่จะใช้น้ำตาล รีดิวซ์ได้อย่างต่อเนื่องตั้งแต่ชั่วโมงที่ 0 จนกระทั่งถึงชั่วโมงที่ 6 ของการหมัก (ภาพที่ 27A) โดยที่ความเข้มข้นของน้ำตาลรีดิวซ์จะมีค่าอยู่ในช่วงที่แบคทีเรียกำลังมีการเจริญเติบโต ซึ่งในชั่วโมงที่ 6 จะมีค่าเท่ากับ 22.26 กรัมต่อลิตร จากนั้นทำการเติมอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีน้ำตาลรีดิวซ์เท่ากับ 75 กรัมต่อลิตร อย่างต่อเนื่องติดต่อกันจำนวน 8 ครั้ง เพื่อรักษาสภาพการเจริญเติบโตและการหมักของแบคทีเรียให้เกิดขึ้นอย่างต่อเนื่อง ซึ่งในช่วงระหว่างที่มีการเติมน้ำตาลรีดิวซ์และเกิดการหมักเพื่อผลิตเอทานอลขึ้น พบว่าความเข้มข้นของน้ำตาลรีดิวซ์หลังจากที่มีการเติมทันทีในแต่ละครั้งในถังปฏิกรณ์ชีวภาพจะมีค่าเพิ่มสูงขึ้นและลดลง นอกจากนี้ยังพบว่าในการเติมน้ำตาลรีดิวซ์แต่ละครั้งมีผลทำให้ความเข้มข้นของน้ำตาลรีดิวซ์เกิดการเจือจางขึ้น โดยช่วงที่มีการเติมน้ำตาลรีดิวซ์จะมีค่าสั้นมาก ซึ่งหลังจากชั่วโมงที่ 13 พบว่าความเข้มข้นของน้ำตาลรีดิวซ์จะมีลดลงอย่างต่อเนื่องและมีค่าคงที่ตลอดระยะเวลาของการหมัก สำหรับความเข้มข้นต่ำสุดของน้ำตาลรีดิวซ์ที่วัดได้มีค่าเท่ากับ 4.33 กรัมต่อลิตร ที่ระยะเวลาของการหมักประมาณ 21 ชั่วโมง สำหรับความเข้มข้นของเอทานอลที่ผลิตได้ พบว่าในช่วงระหว่างชั่วโมงที่ 0 ถึงชั่วโมงที่ 6 ความเข้มข้นของเอทานอลจะมีค่าเพิ่มสูงขึ้นอย่างต่อเนื่อง แต่หลังจากที่มีการเติมน้ำตาลรีดิวซ์ พบว่าความเข้มข้นของเอทานอลจะมีค่าเพิ่มสูงขึ้นเพียงเล็กน้อยตลอดระยะเวลาของการเติมน้ำตาลรีดิวซ์ (ภาพที่ 27B) สำหรับความเข้มข้นสูงสุดของเอทานอลที่ผลิตได้มีค่าเท่ากับ 32.34 กรัมต่อลิตร สำหรับความเข้มข้นของมวลเซลล์ที่ผลิตได้ พบว่าความเข้มข้นของมวลเซลล์จะมีค่าเพิ่มสูงขึ้นอย่างต่อเนื่องตั้งแต่ชั่วโมงที่ 0 จนกระทั่งถึงชั่วโมงที่ 6 โดยไม่สามารถวัดระยะพักตัวของแบคทีเรียได้จากการทดลอง (ภาพที่ 27C) สำหรับการเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของมวลเซลล์ในช่วงระหว่างที่มีการเติมน้ำตาลรีดิวซ์และการหมัก พบว่าความเข้มข้นของมวลเซลล์จะมีค่าเพิ่มสูงขึ้นอีกเพียงเล็กน้อยและค่อนข้างคงที่ในระหว่างที่มีการเติมน้ำตาลรีดิวซ์ แต่ในช่วงสุดท้ายของการหมัก พบว่าความเข้มข้นของมวลเซลล์จะมีค่าลดลง ทั้งนี้เนื่องจากการเจือจางของมวลเซลล์ที่เกิดขึ้นในช่วงระหว่างที่มีการเติมน้ำตาลรีดิวซ์ สำหรับความเข้มข้นสูงสุดของมวลเซลล์ที่วัดได้จากการหมักจะมีค่าเท่ากับ 2.48 กรัมต่อลิตร

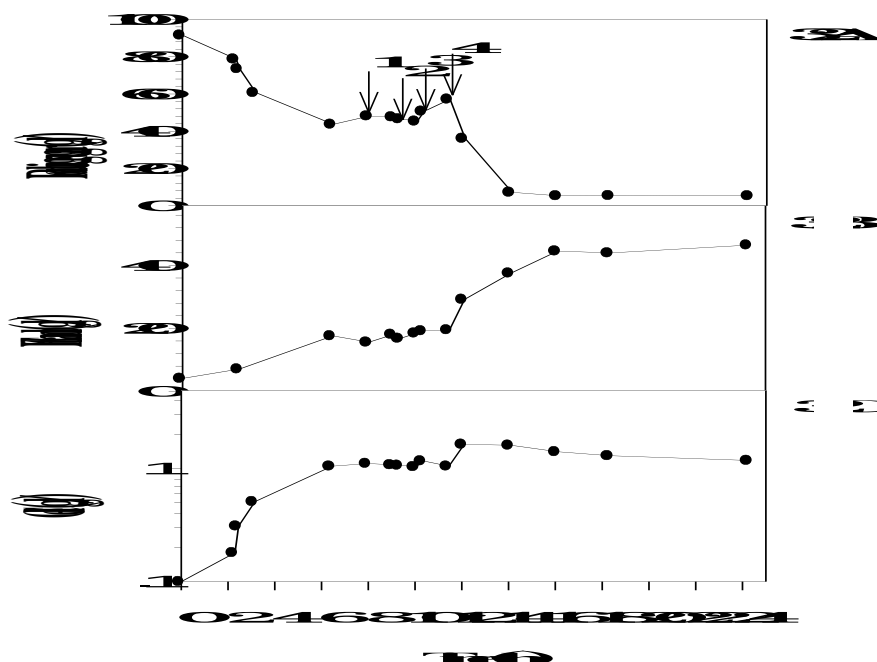
4.4.2.2 การเติมอาหารเลี้ยงเชื้อสูตรปรับต่ำที่มีน้ำตาลรีดิวซ์เท่ากับ 150 กรัมต่อลิตร ปริมาตร 500 มิลลิลิตร จำนวน 4 ครั้ง

จากการทดลอง พบว่าแบคทีเรีย *Z. mobilis* TISTR 548 สามารถที่จะใช้น้ำตาลรีดิวซ์ได้อย่างต่อเนื่องตั้งแต่ชั่วโมงที่ 0 จนกระทั่งถึงชั่วโมงที่ 6 (ภาพที่ 28A) ซึ่งจะมีน้ำตาลรีดิวซ์เหลืออยู่เท่ากับ 48.15 กรัมต่อลิตร จากนั้นทำการเติมอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีน้ำตาลรีดิวซ์เท่ากับ 150 กรัมต่อลิตร ปริมาตร 500 มิลลิลิตร อย่างต่อเนื่องติดต่อกันจำนวน 4 ครั้ง เพื่อรักษาสภาพการเจริญเติบโตและการหมักของแบคทีเรียให้เกิดขึ้นอย่างต่อเนื่อง ซึ่งในช่วงระหว่างที่มีการเติมและการหมักเพื่อผลิตเอทานอล พบว่าความเข้มข้นของน้ำตาลรีดิวซ์ที่เติมในแต่ละครั้งจะมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของน้ำตาลรีดิวซ์และความเข้มข้นของมวลเซลล์ของแบคทีเรียภายในถังปฏิกรณ์ชีวภาพเนื่องจากเกิดการเจือจางของอาหารเลี้ยงเชื้อขึ้น อย่างไรก็ตามพบว่าในการเติมน้ำตาลรีดิวซ์แต่ละครั้งจะทำให้ความเข้มข้นของน้ำตาลรีดิวซ์มีค่าเพิ่มสูงขึ้นและลดลงอย่างต่อเนื่อง สำหรับในช่วงระหว่างที่มีการเติมน้ำตาลรีดิวซ์และการหมักเพื่อผลิตเอทานอล พบว่าความเข้มข้นของน้ำตาลรีดิวซ์จะมีค่าเปลี่ยนแปลงในช่วง

ระหว่าง 48.15-57.19 กรัมต่อลิตร โดยที่ความเข้มข้นต่ำสุดของน้ำตาลรีดิวซ์ที่วัดได้หลังจากการหมัก มีค่าเท่ากับ 5.33 กรัมต่อลิตร ที่ระยะเวลาของการหมักประมาณ 25 ชั่วโมง สำหรับความเข้มข้นของเอทานอลที่ผลิตได้ พบว่าความเข้มข้นของเอทานอลจะมีค่าเพิ่มสูงขึ้นอย่างต่อเนื่องตั้งแต่ชั่วโมงที่ 0 จนกระทั่งถึงชั่วโมงที่ 6 ของการหมัก (ภาพที่ 28B) และจะมีค่าเพิ่มสูงขึ้นอย่างต่อเนื่องในช่วงระหว่างที่มีการเติมน้ำตาลรีดิวซ์ โดยที่ความเข้มข้นสูงสุดของเอทานอลที่วัดได้จากการหมักจะมีค่าเท่ากับ 46.47 กรัมต่อลิตร สำหรับความเข้มข้นของมวลเซลล์ที่ผลิตได้ พบว่าความเข้มข้นของมวลเซลล์จะมีค่าเพิ่มสูงขึ้นอย่างต่อเนื่องตั้งแต่ชั่วโมงที่ 0 จนกระทั่งถึงชั่วโมงที่ 6 ของการหมัก (ภาพที่ 28C) และหลังจากที่มีการเติมน้ำตาลรีดิวซ์ในระหว่างการหมัก พบว่าความเข้มข้นของมวลเซลล์จะถูกเจือจางตามปริมาตรที่เพิ่มสูงขึ้นของอาหารเลี้ยงเชื้อ อย่างไรก็ตามพบว่าความเข้มข้นของมวลเซลล์จะมีค่าเพิ่มสูงขึ้นเพียงเล็กน้อยในช่วงที่มีการเติมน้ำตาลรีดิวซ์ และเป็นช่วงที่แบคทีเรียมีกำลังมีการเจริญเติบโต อย่างไรก็ตามความเข้มข้นของมวลเซลล์จะมีความเข้มข้นลดลงในช่วงสุดท้ายของการหมัก โดยที่ความเข้มข้นสูงสุดของมวลเซลล์ที่วัดได้จากการหมักจะมีค่าเท่ากับ 1.64 กรัมต่อลิตร



ภาพที่ 27 การหมักเพื่อผลิตเอทานอลแบบกึ่งกะ โดยวิธีการเติมน้ำตาลรีดิวซ์เข้มข้นเท่ากับ 75 กรัมต่อลิตร ปริมาตร 250 มิลลิลิตร จำนวน 8 ครั้ง



ภาพที่ 28 เปรียบเทียบการหมักเพื่อผลิตเอทานอลแบบกึ่งกะ โดยวิธีการเติมน้ำตาลรีดิวซ์เข้มข้นเท่ากับ

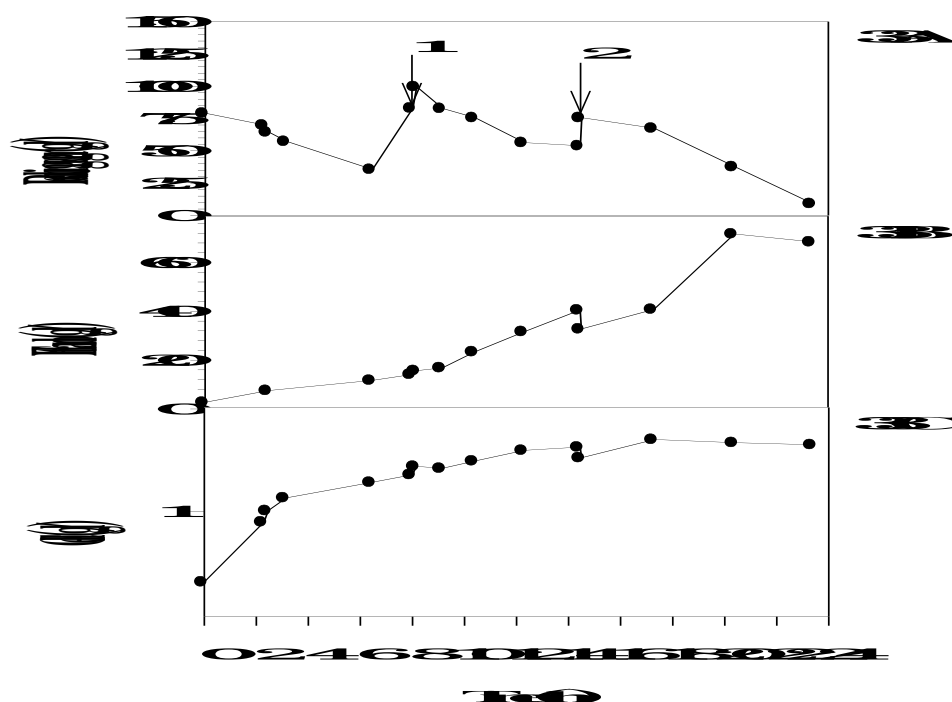
150 กรัมต่อลิตร ปริมาตร 500 มิลลิลิตร จำนวน 4 ครั้ง

4.4.2.2 การเติมอาหารเลี้ยงเชื้อสูตรปรับค่าที่มีน้ำตาลรีดิวซ์เท่ากับ 300 กรัมต่อลิตร ปริมาตร 1 ลิตร จำนวน 2 ครั้ง

จากการทดลอง พบว่าแบคทีเรีย *Z. mobilis* TISTR 548 สามารถที่จะใช้น้ำตาลรีดิวซ์ได้อย่างต่อเนื่อง ตั้งแต่ชั่วโมงที่ 0 จนกระทั่งถึงชั่วโมงที่ 6 (ภาพที่ 29A) ซึ่งจะมีน้ำตาลรีดิวซ์เหลืออยู่เท่ากับ 35.63 กรัมต่อลิตร จากนั้นทำการเติมอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีน้ำตาลรีดิวซ์เท่ากับ 300 กรัมต่อลิตร ปริมาตร 1 ลิตร อย่างต่อเนื่องติดต่อกันจำนวน 2 ครั้ง เพื่อรักษาสภาพการเจริญเติบโตและการหมักของแบคทีเรียให้เกิดขึ้นอย่างต่อเนื่อง ซึ่งในช่วงระหว่างที่มีการเติมและการหมักเพื่อผลิตเอทานอล พบว่าความเข้มข้นของน้ำตาลรีดิวซ์ที่เติมในแต่ละครั้งจะมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของน้ำตาลรีดิวซ์และความเข้มข้นของมวลเซลล์ของแบคทีเรียภายในถังปฏิกรณ์ชีวภาพเนื่องจากเกิดการเจือจางของอาหารเลี้ยงเชื้อขึ้น อย่างไรก็ตามพบว่าการเติมน้ำตาลรีดิวซ์แต่ละครั้งจะทำให้ความเข้มข้นของน้ำตาลรีดิวซ์มีค่าเพิ่มสูงขึ้นอย่างชัดเจน โดยที่ความเข้มข้นต่ำสุดของน้ำตาลรีดิวซ์ที่วัดได้หลังจากการหมักมีค่าเท่ากับ 9.13 กรัมต่อลิตร ที่ระยะเวลาของการหมักประมาณ 21 ชั่วโมง สำหรับความเข้มข้นของเอทานอลที่ผลิตได้ พบว่าความเข้มข้นของเอทานอลจะมีค่าเพิ่มสูงขึ้นอย่างต่อเนื่องตั้งแต่ชั่วโมงที่ 0 จนกระทั่งถึงชั่วโมงที่ 6 ของการหมัก (ภาพที่ 29B) และจะมีค่าเพิ่มสูงขึ้นอย่างต่อเนื่องในช่วงระหว่างที่มีการเติมน้ำตาลรีดิวซ์ โดยที่ความเข้มข้นสูงสุดของเอทานอลที่วัดได้จากการหมักจะมีค่าเท่ากับ 71.70 กรัมต่อลิตร สำหรับความเข้มข้นของมวลเซลล์ที่ผลิตได้ พบว่าความเข้มข้นของมวลเซลล์จะมีค่าเพิ่มสูงขึ้นอย่างต่อเนื่องตั้งแต่ชั่วโมงที่ 0 จนกระทั่งถึงชั่วโมงที่ 4 ของการหมัก (ภาพที่ 29C) และหลังจากที่มีการเติมน้ำตาลรีดิวซ์ในระหว่างการหมัก พบว่าความเข้มข้นของมวลเซลล์จะถูกเจือจางตามปริมาณที่เพิ่มสูงขึ้นของอาหารเลี้ยงเชื้อ อย่างไรก็ตามพบว่าความเข้มข้นของมวลเซลล์จะมีค่าเพิ่มสูงขึ้นอย่างต่อเนื่องในช่วงที่มีการเติมน้ำตาลรีดิวซ์ และเป็นช่วงที่แบคทีเรียมีกำลังมีการเจริญเติบโต อย่างไรก็ตามความเข้มข้นของ

มวลเซลล์จะมีความเข้มข้นคงที่ตลอดระยะเวลาของการหมัก โดยที่ความเข้มข้นสูงสุดของมวลเซลล์ที่วัดได้จากการหมักจะมีค่าเท่ากับ 3.00 กรัมต่อลิตร

เมื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพในการผลิตเอทานอลจากการหมักแบบกึ่งกะทั้ง 3 วิธี พบว่าการเติมน้ำตาลรีดิวซ์ที่มีความเข้มข้นเท่ากับ 300 กรัมต่อลิตร ปริมาตร 1 ลิตร จำนวน 2 ครั้งจะผลิตเอทานอลได้สูงกว่าวิธีอื่น ๆ ดังนั้นการเติมน้ำตาลรีดิวซ์ที่มีความเข้มข้นเท่ากับ 300 กรัมต่อลิตร ปริมาตร 1 ลิตร จำนวน 2 ครั้ง จึงเป็นวิธีที่เหมาะสมที่สุดสำหรับการหมักเพื่อผลิตเอทานอล



ภาพที่ 29 เปรียบเทียบการหมักเพื่อผลิตเอทานอลแบบกึ่งกะ โดยวิธีการเติมน้ำตาลรีดิวซ์เข้มข้นเท่ากับ 300 กรัมต่อลิตร ปริมาตร 1 ลิตร จำนวน 2 ครั้ง

บทที่ 5

วิจารณ์ผลการทดลอง

5.1 การศึกษาเปรียบเทียบแบคทีเรีย *Z. mobilis*

5.1.1 การศึกษาการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย *Z. mobilis* โดยใช้อาหารเลี้ยงเชื้อสูตร yeast extract-peptone glucose

จากการทดลองเพื่อศึกษาการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย *Z. mobilis* จำนวน 2 สายพันธุ์ ได้แก่ แบคทีเรีย *Z. mobilis* TISTR 548 และ *Z. mobilis* TISTR 1042 ในอาหารเลี้ยงเชื้อสูตร yeast extract-peptone glucose พบว่าแบคทีเรีย *Z. mobilis* ทั้ง 2 สายพันธุ์สามารถที่จะเจริญเติบโตได้ดีและใกล้เคียงกัน เมื่อเปรียบเทียบค่าอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ พบว่าแบคทีเรีย *Z. mobilis* TISTR 1042 จะมีค่า (0.32 ต่อชั่วโมง) สูงกว่าแบคทีเรีย *Z. mobilis* TISTR 548 (0.31 ต่อชั่วโมง) เพียงเล็กน้อย ซึ่งมีค่าไม่แตกต่างกันมาก แต่เนื่องจากอัตราการเจริญเติบโตมีผลต่ออัตราการผลิตเอทานอลที่เกิดขึ้นควบคู่กันกับกระบวนการสร้างพลังงานของแบคทีเรีย (Doran, 1998) ดังนั้นแบคทีเรีย *Z. mobilis* ทั้ง 2 สายพันธุ์จึงมีความสามารถที่จะผลิตเอทานอลได้ใกล้เคียงกัน อย่างไรก็ตามแบคทีเรีย *Z. mobilis* สายพันธุ์ที่แตกต่างกันจะมีความสามารถในการผลิตเอทานอลและการเจริญเติบโตได้แตกต่างกัน (Skotnicki *et al.*, 1981) ถึงแม้ว่าจะเพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อแบบเดียวกัน นอกจากแหล่งคาร์บอนและพลังงานที่เป็นน้ำตาลกลูโคส แบคทีเรีย *Z. mobilis* ยังสามารถที่จะใช้น้ำตาลจากแหล่งอื่นได้อีก 2 ชนิดคือ ฟรุคโตส และ ซูโครส (Buchanan *et al.*, 1974) แต่การใช้น้ำตาลซูโครสจะทำให้เกิดสารสีแวนซินได้ ซึ่งจะมีผลต่อการเจริญเติบโตและลดประสิทธิภาพของแบคทีเรียในการผลิตเอทานอลได้ (Swings, De Ley, 1977) สำหรับน้ำตาลฟรุคโตส พบว่าจะมีการนำเข้าสู่เซลล์ของแบคทีเรีย *Z. mobilis* ได้ช้ากว่าน้ำตาลกลูโคส (Di Marco *et al.*, 1985) ดังนั้นจึงทำให้น้ำตาลกลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอนและพลังงานที่สำคัญของแบคทีเรีย *Z. mobilis* นอกจากนี้ยังพบว่าแบคทีเรีย *Z. mobilis* ทั้ง 2 สายพันธุ์จะเจริญเติบโตได้ดีในอาหารเลี้ยงเชื้อที่เติมทั้ง yeast extract และ peptone ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Swings, De Ley (1977) ที่ได้รายงาน bahwaแบคทีเรีย *Z. mobilis* จะเจริญเติบโตได้ดีในอาหารเลี้ยงเชื้อสูตรอุดมที่ประกอบด้วยน้ำตาลกลูโคส yeast extract และ peptone แต่จะเจริญเติบโตได้ดีกว่าเมื่อเพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อที่เติมเฉพาะ yeast extract นอกจากนี้ Tanaka *et al.* (1999) ได้รายงานว่าการเพาะเลี้ยงแบคทีเรีย *Z. mobilis* ในอาหารเลี้ยงเชื้อสูตรสังเคราะห์ที่เติมเฉพาะกรดอะมิโนบางชนิด หรือ NH_4Cl พบว่าอัตราการเจริญเติบโตและผลได้ของมวลเซลล์ของแบคทีเรียจะมีค่าต่ำกว่าเมื่อเพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อสูตรเดิมที่เติมเฉพาะ yeast extract ประมาณร้อยละ 50 ของน้ำแห้งของมวลเซลล์ อย่างไรก็ตามจากการทดลองไม่ได้เปรียบเทียบความสามารถในการเจริญเติบโตในอาหารเลี้ยงเชื้อสูตรปรับต่ำ ซึ่งสามารถที่จะใช้เป็นข้อมูลในการคัดเลือกแบคทีเรีย *Z. mobilis* ได้ดีมากขึ้น แต่เนื่องจากอาหารเลี้ยงเชื้อสูตร yeast extract-peptone glucose จัดเป็นอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีความอุดมจึงมีความเหมาะสมมากที่สุด สำหรับนำมาใช้ในการศึกษาการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย *Z. mobilis* โดยที่การเจริญเติบโตของแบคทีเรียไม่ถูกจำกัด นอกจากนี้ yeast extract และ peptone จัดเป็นแหล่งไนโตรเจนและเกลือแร่ที่มีความอุดมสมบูรณ์มากต่อการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์โดยทั่วไป (Atkinson, Mativuna, 1991) สำหรับความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคสเริ่มต้นในสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อ yeast extract-peptone glucose (50 กรัมต่อ

ลิตร) พบว่าไม่ทำให้แบคทีเรีย *Z. mobilis* ทั้ง 2 สายพันธุ์ถูกยับยั้งเนื่องจากความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคส (substrate inhibition) รวมทั้งไม่ทำให้เซลล์ของแบคทีเรียแตกได้เนื่องจากการสูญเสียน้ำออกจากเซลล์ (plasmolysis) (Atkinson, Mativuna, 1991) นอกจากนี้จากการทดลอง พบว่าแบคทีเรีย *Z. mobilis* ทั้ง 2 สายพันธุ์มีการเจริญเติบโตอย่างรวดเร็วโดยมีระยะเวลาพักตัวสั้นมาก ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Scopes, Griffiths-Smith (1986 อ้างถึงใน <http://ces.iisc.ernet.in/curscinev/july10/articles14htm>.) ที่ได้รายงานว่าน้ำตาลกลูโคสที่มีความเข้มข้นสูงจะไม่ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ใน Entner-Doudoroff pathway แต่จะถูกนำเข้าสู่เซลล์และสลายเป็นเอทานอลอย่างรวดเร็ว ซึ่งสภาวะดังกล่าวนี้สามารถที่จะทำให้แรงดันออสโมซิสที่เกิดขึ้นจากน้ำตาลกลูโคสมีค่าลดลงอย่างรวดเร็ว สำหรับความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคสสูงสุดที่แบคทีเรีย *Z. mobilis* สามารถที่จะทนได้ พบว่ามีค่ามากกว่าร้อยละ 25 (โดยน้ำหนักต่อปริมาตร) และแบคทีเรีย *Z. mobilis* บางสายพันธุ์อาจมีค่ามากถึงร้อยละ 40 (โดยน้ำหนักต่อปริมาตร) (Kluyver, Hoppenbrouwer 1931 อ้างถึงใน Swings, De Ley, 1977) ดังนั้นจึงทำให้แบคทีเรีย *Z. mobilis* ทั้ง 2 สายพันธุ์ไม่ถูกยับยั้งการเจริญเติบโตเนื่องมาจากความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคสเริ่มต้นดังกล่าว สำหรับกระบวนการสร้างพลังงานที่เกิดขึ้นเมื่อเพาะเลี้ยงแบคทีเรีย *Z. mobilis* ในอาหารเลี้ยงเชื้อสูตร yeast extract-peptone glucose พบว่าแบคทีเรีย *Z. mobilis* จะใช้น้ำตาลกลูโคสเพียงแหล่งเดียวเพื่อนำไปใช้ในการสร้างพลังงาน รวมทั้งจะไม่พบสารมัธยันตร์ที่เกิดขึ้นจากน้ำตาลกลูโคสถูกเก็บสะสมไว้ในรูปของไกลโคเจนหรือพอลิฟอสโฟริเลสโพลิเมอร์ นอกจากนี้พบว่าน้ำตาลกลูโคสร้อยละ 98 จะถูกนำไปใช้ในกระบวนการสร้างพลังงานซึ่งจะทำให้เกิดผลิตภัณฑ์ต่าง ๆ ขึ้นซึ่งได้แก่ เอทานอล ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ ATP และความร้อน และน้ำตาลกลูโคสอีกร้อยละ 2 จะถูกนำไปใช้ในรูปของหน่วยการสร้าง (building material) สำหรับการเจริญเติบโตของเซลล์ (Swings, De Ley, 1977) อย่างไรก็ตาม Belaich, Senez (1965 อ้างถึงใน Swings, De Ley, 1977) พบว่าน้ำตาลกลูโคสร้อยละ 2 สามารถที่จะผลิตสารประกอบคาร์บอนได้เพียงร้อยละ 48 ในขณะที่ส่วนที่เหลือจะได้รับจากองค์ประกอบของ peptone หรือ yeast extract หรือทั้ง 2 ชนิดรวมกันในรูปของกรดอะมิโนและสารอินทรีย์ต่าง ๆ ในรูปของหน่วยการสร้าง แต่จะไม่นำองค์ประกอบของ peptone หรือ yeast extract ไปใช้เพื่อการสร้างพลังงาน อย่างไรก็ตามในบางสภาวะอัตราการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย *Z. mobilis* จะไม่สอดคล้องกับอัตราการผลิตผลิตภัณฑ์ ซึ่งจากการศึกษาของ Belaich *et al.* (1972 อ้างถึงใน Swings, De Ley, 1977) พบว่ากระบวนการสังเคราะห์สารชีวโมเลกุล (biosynthesis) และการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย *Z. mobilis* NCIB 8938 จะมีค่าลดลงเมื่อเพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อสูตรสังเคราะห์และสูตรปรับค่าที่มีสารแพนโททีนในความเข้มข้นต่ำ ๆ โดยพบว่าสารแพนโททีนจะเป็นส่วนประกอบของโคเอนไซม์เอ (coenzyme A) ซึ่งมีความสำคัญสำหรับกิจกรรมของเอนไซม์ในกลุ่มทรานสเฟอเรส (transferases) หลายชนิดและมีความสำคัญอย่างมากต่อกระบวนการสังเคราะห์สารชีวโมเลกุลภายในเซลล์ของแบคทีเรีย อย่างไรก็ตามพบว่าอัตราการใช้น้ำตาลกลูโคสของแบคทีเรียจะมีค่าเท่าเดิม แต่จะมีการสะสมของ ATP ภายในเซลล์มากถึง 2 เท่า นอกจากนี้ยังพบว่าแบคทีเรียจะไม่เจริญเติบโตเพิ่มจำนวนเซลล์แต่จะใช้ ATP ที่ผลิตขึ้นมาจำนวนมากนำไปใช้ในการผลิตเอทานอลหรือใช้ในกิจกรรมอย่างอื่นที่ไม่ใช่การเพิ่มจำนวนเซลล์ ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Park, Baratti (1993) ที่ได้รายงานว่าเกลือโปแตสเซียมคลอไรด์ (KCl) ที่มีความเข้มข้นสูง ๆ จะมีผลในการยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย *Z. mobilis* แต่จะไม่มีผลในการยับยั้งการผลิตเอทานอล นอกจากนี้ยังพบว่าแบคทีเรียจะรักษาระดับความเข้มข้นของเกลือโปแตสเซียมคลอไรด์ภายในเซลล์ให้มีความเข้มข้นที่ต่ำกว่าภายนอกเซลล์โดยอาศัยระบบ

แอกทีฟทรานสปอร์ต (active transport system) อย่างไรก็ตามอาหารเลี้ยงเชื้อที่นำมาใช้ในการศึกษาค้างนี้ จะมีองค์ประกอบของสารต่าง ๆ ที่มากเพียงพอต่อการเจริญเติบโตเพิ่มจำนวนเซลล์และผลิตเอทานอล โดยที่การเจริญเติบโตเพิ่มจำนวนเซลล์ของแบคทีเรีย *Z. mobilis* ทั้ง 2 สายพันธุ์ไม่ถูกจำกัดด้วยสารที่จะนำไปใช้ในกระบวนการสังเคราะห์ของเซลล์ ดังนั้นเมื่อพิจารณาอัตราการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย *Z. mobilis* ทั้ง 2 สายพันธุ์ ในอาหารเลี้ยงเชื้อสูตร yeast extract-peptone glucose สามารถสรุปได้ว่าแบคทีเรีย *Z. mobilis* ทั้ง 2 สายพันธุ์จะมีประสิทธิภาพในการใช้น้ำตาลกลูโคสและองค์ประกอบต่าง ๆ จาก yeast extract และ peptone เพื่อการเจริญเติบโตได้ดีเท่ากัน

5.1.2 การศึกษาการหมักเพื่อผลิตเอทานอลของแบคทีเรีย *Z. mobilis* ในอาหารเลี้ยงเชื้อสูตร cultivation medium (Siva Kesava *et al.*, 1995)

เมื่อนำน้ำตาลกลูโคสเริ่มต้นเท่ากับ 50 กรัมต่อลิตร พบว่าแบคทีเรีย *Z. mobilis* ทั้ง 2 สายพันธุ์ สามารถที่จะใช้น้ำตาลกลูโคสได้อย่างรวดเร็วภายใน 8 ชั่วโมงแรกของการหมักและสามารถที่จะผลิตเอทานอลได้สูงสุดในช่วงเวลาที่น้ำตาลกลูโคสลดลง แต่ Siva Kesava *et al.* (1995) ได้รายงานว่าระยะเวลาของการหมักจะมีค่าเท่ากับ 10 ชั่วโมง เมื่อพิจารณาความเข้มข้นของมวลเซลล์ของแบคทีเรีย *Z. mobilis* ทั้ง 2 สายพันธุ์ พบว่าแบคทีเรีย *Z. mobilis* ทั้ง 2 สายพันธุ์จะมีการเจริญเติบโตอย่างรวดเร็วภายใน 4 ชั่วโมงแรกของการหมักโดยที่ไม่มีระยะพักตัว แต่ Siva Kesava *et al.* (1995) ได้รายงานว่าระยะพักตัวของแบคทีเรีย *Z. mobilis* MTCC 92 จะมีค่าเท่ากับ 3 ชั่วโมงเมื่อนำน้ำตาลกลูโคสเริ่มต้นเท่ากับ 50 กรัมต่อลิตร สำหรับความเข้มข้นต่ำสุดของน้ำตาลกลูโคสที่วัดได้จากการหมักโดยแบคทีเรีย *Z. mobilis* ทั้ง 2 สายพันธุ์ พบว่าจะมีค่าประมาณ 3 กรัมต่อลิตร ซึ่งมีค่าต่ำกว่าที่ Siva Kesava *et al.* (1995) ได้รายงานว่ามีค่าเท่ากับ 5.1 กรัมต่อลิตร สำหรับความเข้มข้นสูงสุดของเอทานอลที่วัดได้จากการหมักโดยแบคทีเรีย *Z. mobilis* ทั้ง 2 สายพันธุ์ พบว่ามีค่าระหว่าง 22.72-23.31 กรัมต่อลิตร ซึ่งมีค่าสูงกว่าการศึกษาของ Siva Kesava *et al.* (1995) ที่ได้รายงานว่ามีค่าเท่ากับ 21.6 กรัมต่อลิตร สำหรับความเข้มข้นสูงสุดของมวลเซลล์ที่วัดได้จากการหมักโดยแบคทีเรีย *Z. mobilis* ทั้ง 2 สายพันธุ์ พบว่ามีค่าระหว่าง 1.20-1.40 กรัมต่อลิตร ซึ่งมีค่าต่ำกว่าการศึกษาของ Siva Kesava *et al.* (1995) ที่ได้รายงานว่ามีค่าเท่ากับ 1.90 กรัมต่อลิตร เมื่อเปรียบเทียบผลได้ของมวลเซลล์ พบว่าแบคทีเรีย *Z. mobilis* ทั้ง 2 สายพันธุ์จะมีผลได้ของมวลเซลล์ระหว่าง 0.025-0.029 กรัมมวลเซลล์ต่อกรัมน้ำตาลกลูโคสที่ถูกใช้ไป ซึ่งมีค่าต่ำกว่าการศึกษาของ Siva Kesava *et al.* (1995) ที่ได้รายงานว่ามีค่าเท่ากับ 0.04 กรัมมวลเซลล์ต่อกรัมน้ำตาลกลูโคสที่ถูกใช้ไป อย่างไรก็ตามเมื่อเปรียบเทียบผลได้ของเอทานอล พบว่าแบคทีเรีย *Z. mobilis* ทั้ง 2 สายพันธุ์จะมีค่าระหว่าง 0.480-0.494 กรัมเอทานอลต่อกรัมน้ำตาลกลูโคสที่ถูกใช้ไป ซึ่งมีค่าใกล้เคียงกับการศึกษาของ Siva Kesava *et al.* (1995) ที่ได้รายงานว่ามีค่าเท่ากับ 0.48 กรัมเอทานอลต่อกรัมน้ำตาลกลูโคสที่ถูกใช้ไป สำหรับค่าอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะที่ได้จากการหมักโดยแบคทีเรีย *Z. mobilis* ทั้ง 2 สายพันธุ์ พบว่ามีค่าระหว่าง 0.47-0.52 ต่อชั่วโมง ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Siva Kesava *et al.* (1995) ที่ได้รายงานว่ามีค่าเท่ากับ 0.52 ต่อชั่วโมงเมื่อพิจารณาประสิทธิภาพของผลได้ของเอทานอล พบว่าแบคทีเรีย *Z. mobilis* TISTR 548 จะมีค่ามากกว่าร้อยละ 96 ของน้ำตาลกลูโคสเริ่มต้นสูงกว่าแบคทีเรีย *Z. mobilis* TISTR 1042 (ร้อยละ 94.12 ของน้ำตาลกลูโคสเริ่มต้น) และจากการศึกษา Siva Kesava *et al.* (1995) ที่ได้รายงานว่ามีค่าเท่ากับร้อยละ 94 ของน้ำตาลกลูโคสเริ่มต้น ซึ่งมีค่าใกล้เคียงกับแบคทีเรีย

Z. mobilis TISTR 1042 ดังนั้นจากการทดลองที่ได้จะให้ผลการทดลองสอดคล้องกับการศึกษาของ Siva Kesava *et al.* (1995) อย่างไรก็ตามพบว่าแบคทีเรีย *Z. mobilis* TISTR 548 จะมีความสามารถในการใช้น้ำตาลกลูโคสและผลิตเอทานอลได้สูงกว่าแบคทีเรีย *Z. mobilis* TISTR 1042 รวมทั้งจะให้ความเข้มข้นของมวลเซลล์ต่ำกว่า แต่สามารถที่จะผลิตเอทานอลได้สูงกว่า

เมื่อใช้น้ำตาลกลูโคสเริ่มต้นเท่ากับ 100 กรัมต่อลิตร พบว่าแบคทีเรีย *Z. mobilis* ทั้ง 2 สายพันธุ์สามารถที่จะใช้น้ำตาลกลูโคสได้แตกต่างกัน โดยที่แบคทีเรีย *Z. mobilis* TISTR 548 จะใช้ระยะเวลาของการหมักนาน 20 ชั่วโมง ในขณะที่แบคทีเรีย *Z. mobilis* TISTR 1042 จะใช้เวลาในการหมักนาน 16 ชั่วโมง โดยที่ทั้ง 2 สายพันธุ์ไม่มีระยะพักตัว แต่จากการศึกษาของ Siva Kesava *et al.* (1995) พบว่าระยะเวลาของการหมักน้ำตาลกลูโคสเข้มข้น 100 กรัมต่อลิตร โดยแบคทีเรีย *Z. mobilis* MTCC 92 จะมีค่าเท่ากับ 25 ชั่วโมง และมีระยะเวลาพักตัวนานมากถึง 9 ชั่วโมง เมื่อพิจารณาความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคสที่เหลือจากการหมัก พบว่าแบคทีเรีย *Z. mobilis* ทั้ง 2 สายพันธุ์จะมีค่าในช่วงระหว่าง 3.25-3.87 กรัมต่อลิตร ซึ่งมีค่าต่ำกว่าที่ Siva Kesava *et al.* (1995) ที่ได้รายงานว่ามีค่าเท่ากับ 6.5 กรัมต่อลิตร เมื่อพิจารณาความเข้มข้นของมวลเซลล์ พบว่าแบคทีเรีย *Z. mobilis* ทั้ง 2 สายพันธุ์จะมีค่าระหว่าง 2.14-2.73 กรัมต่อลิตร และมีผลได้ของมวลเซลล์ประมาณ 0.020 กรัมมวลเซลล์ต่อกรัม น้ำตาลกลูโคสที่ถูกใช้ไป ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Siva Kesava *et al.* (1995) ที่ได้รายงานว่าความเข้มข้นของมวลเซลล์มีค่าเท่ากับ 2.2 กรัมต่อลิตร และผลได้ของมวลเซลล์ประมาณ 0.02 กรัมมวลเซลล์ต่อกรัม น้ำตาลกลูโคสที่ถูกใช้ไป เมื่อพิจารณาค่าอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะของแบคทีเรีย *Z. mobilis* ทั้ง 2 สายพันธุ์ พบว่าแบคทีเรีย *Z. mobilis* TISTR 1042 จะมีค่า (0.22 ต่อชั่วโมง) สูงมากกว่าแบคทีเรีย *Z. mobilis* TISTR 548 (0.14 ต่อชั่วโมง) ซึ่งค่าอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะของแบคทีเรีย *Z. mobilis* TISTR 1042 จะมีค่าสอดคล้องกับการศึกษาของ Siva Kesava *et al.* (1995) ที่ได้รายงานว่ามีค่าเท่ากับ 0.22 ต่อชั่วโมง สำหรับความเข้มข้นสูงสุดของเอทานอลที่ได้ พบว่าแบคทีเรีย *Z. mobilis* ทั้ง 2 สายพันธุ์จะมีค่าระหว่าง 42.86-43.72 กรัมต่อลิตร และมีผลได้ของเอทานอลระหว่าง 0.440-0.450 กรัมเอทานอลต่อกรัม น้ำตาลกลูโคสที่ถูกใช้ไป ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Siva Kesava *et al.* (1995) ที่ได้รายงานว่ามีค่าเท่ากับ 43.4 กรัมต่อลิตร แต่จะมีค่าผลได้ของเอทานอลสูงกว่าคือ 0.46 กรัมเอทานอลต่อกรัม น้ำตาลกลูโคสที่ถูกใช้ไป ดังนั้นจากการทดลองจะให้ผลการทดลองสอดคล้องกับการศึกษาของ Siva Kesava *et al.* (1995) อย่างไรก็ตามพบว่าแบคทีเรีย *Z. mobilis* TISTR 1042 จะมีความสามารถในการใช้น้ำตาลกลูโคสและผลิตเอทานอลได้สูงกว่าและเร็วกว่าแบคทีเรีย *Z. mobilis* TISTR 548 รวมทั้งจะใช้เวลาในการหมักสั้นกว่าคือ 16 ชั่วโมง

เมื่อใช้น้ำตาลกลูโคสเริ่มต้นเท่ากับ 150 กรัมต่อลิตร พบว่าแบคทีเรีย *Z. mobilis* ทั้ง 2 สายพันธุ์ที่จะใช้น้ำตาลกลูโคสได้อย่างรวดเร็วภายใน 20 ชั่วโมงแรกของการหมัก ซึ่งไม่สามารถวัดระยะพักตัวได้จากการทดลอง ในขณะที่การศึกษาของ Siva Kesava *et al.* (1995) ได้รายงานว่าแบคทีเรีย *Z. mobilis* MTCC 92 จะมีระยะพักตัวนาน 9 ชั่วโมง และมีระยะเวลาของการหมักน้ำตาลกลูโคสเข้มข้นเท่ากับ 150 กรัมต่อลิตรประมาณ 35 ชั่วโมง เมื่อพิจารณาความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคสที่เหลือจากการหมักของแบคทีเรีย *Z. mobilis* ทั้ง 2 สายพันธุ์ พบว่าจะมีค่าระหว่าง 4.43-4.48 กรัมต่อลิตร ต่ำกว่าที่ Siva Kesava *et al.* (1995) ได้รายงานว่ามีค่าเท่ากับ 8.0 กรัมต่อลิตร เมื่อพิจารณาความเข้มข้นของมวลเซลล์ พบว่าแบคทีเรีย *Z. mobilis* ทั้ง 2 สายพันธุ์จะมีค่าเท่ากับ 3.90 กรัมต่อลิตร และมีผลได้ของมวลเซลล์ประมาณ 0.027 กรัมมวลเซลล์ต่อกรัม น้ำตาลกลูโคสที่ถูกใช้ไป ซึ่งสอดคล้องกับ

การศึกษาของ Siva Kesava *et al.* (1995) ที่ได้รายงานว่ามีค่าเท่ากับ 3.3 กรัมต่อลิตร และผลได้ของมวลเซลล์ประมาณ 0.02 กรัมมวลเซลล์ต่อกรัมน้ำตาลกลูโคสที่ถูกใช้ไป เมื่อพิจารณาค่าอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะของแบคทีเรีย *Z. mobilis* ทั้ง 2 สายพันธุ์ พบว่าแบคทีเรีย *Z. mobilis* TISTR 1042 จะมีค่า (0.15 ต่อชั่วโมง) สูงมากกว่าแบคทีเรีย *Z. mobilis* TISTR 548 (0.05 ต่อชั่วโมง) ในขณะที่การศึกษาของ Siva Kesava *et al.* (1995) ที่ได้รายงานว่ามีค่าเท่ากับ 0.17 ต่อชั่วโมง ซึ่งสอดคล้องกับแบคทีเรีย *Z. mobilis* TISTR 1042 ที่มีค่าเท่ากับ 0.15 ต่อชั่วโมง สำหรับความเข้มข้นสูงสุดของเอทานอล พบว่าแบคทีเรีย *Z. mobilis* ทั้ง 2 สายพันธุ์จะมีค่าระหว่าง 72.56-72.85 กรัมต่อลิตร และมีผลได้ของเอทานอลระหว่าง 0.499-0.501 กรัมเอทานอลต่อกรัมน้ำตาลกลูโคสที่ถูกใช้ไป ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Siva Kesava *et al.* (1995) ที่ได้รายงานว่ามีค่าเท่ากับ 70.4 กรัมต่อลิตร และมีผลได้ของเอทานอลเท่ากับ 0.50 กรัมเอทานอลต่อกรัมน้ำตาลกลูโคสที่ถูกใช้ไป ดังนั้นจากการทดลองจะให้ผลการทดลองสอดคล้องกับการศึกษาของ Siva Kesava *et al.* (1995) อย่างไรก็ตามพบว่าระยะเวลาของการหมักของแบคทีเรีย *Z. mobilis* ทั้ง 2 สายพันธุ์มีค่าสั้นกว่า (20 ชั่วโมง) ที่ Siva Kesava *et al.* (1995) ที่ได้รายงานว่ามีค่าประมาณ 35 ชั่วโมง เมื่อพิจารณาการเตรียมกล้าเชื้อของแบคทีเรีย *Z. mobilis* ทั้ง 2 สายพันธุ์ พบว่าจะใช้ระยะเวลาบ่มเพาะเชื้อนาน 24 ชั่วโมงและใช้น้ำตาลกลูโคสสำหรับการเตรียมกล้าเชื้อเท่ากับ 50 กรัมต่อลิตร ในขณะที่ Siva Kesava *et al.* (1995) ได้รายงานว่าการเตรียมกล้าเชื้อของแบคทีเรีย *Z. mobilis* MTCC 92 จะใช้เวลาบ่มเพาะเชื้อประมาณ 20 ชั่วโมง และใช้น้ำตาลกลูโคสเท่ากับ 40 กรัมต่อลิตร ซึ่งความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคสที่ใช้และระยะเวลาของการบ่มเพาะเชื้อจะมีผลต่อการเจริญเติบโตและจำนวนเซลล์ของแบคทีเรีย *Z. mobilis* ดังนั้นจึงทำให้จำนวนเซลล์เริ่มต้นของแบคทีเรีย *Z. mobilis* มีค่าแตกต่างกัน เมื่อนำกล้าเชื้อไปทำการทดลองในปริมาณเริ่มต้นเท่ากันคือร้อยละ 15 (โดยปริมาตร) จึงทำให้ลักษณะของการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย *Z. mobilis* แตกต่างกัน ซึ่งจากการทดลอง พบว่าแบคทีเรีย *Z. mobilis* ทั้ง 2 สายพันธุ์จะมีการเจริญเติบโตอย่างรวดเร็วจนไม่สามารถวัดระยะพักตัวได้จากการทดลอง ซึ่งแตกต่างจากการศึกษาของ Siva Kesava *et al.* (1995) ที่ได้รายงานว่าแบคทีเรีย *Z. mobilis* MTCC 92 จะมีระยะพักตัวประมาณ 9 ชั่วโมง และระยะเวลาของการหมักนาน 35 ชั่วโมง เพื่อเป็นการลดจำนวนเซลล์ของแบคทีเรีย *Z. mobilis* เริ่มต้นเพื่อใช้สำหรับการศึกษารูปแบบของการเจริญเติบโต (growth curve) สามารถที่จะทำได้โดยการลดระยะเวลาของการเตรียมกล้าเชื้อให้สั้นลงในช่วงระยะเวลาที่เหมาะสมหรือเจือจางให้มีจำนวนเซลล์ที่เหมาะสม อย่างไรก็ตาม Skotnicki *et al.* (1981) ได้รายงานว่าการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย *Z. mobilis* จะแปรผันไปตามสายพันธุ์และสภาพแวดล้อมของการเพาะเลี้ยง นอกจากนี้ Schoberth *et al.* (1996) ได้รายงานว่าเมื่อแบคทีเรีย *Z. mobilis* มีการเจริญเติบโตอย่างรวดเร็ว จะทำให้การผลิตเอทานอลเกิดขึ้นได้อย่างรวดเร็วเช่นเดียวกัน ดังนั้นจากการทดลองจึงไม่สามารถที่จะวัดระยะพักตัวของแบคทีเรีย *Z. mobilis* ทั้ง 2 สายพันธุ์ได้ รวมทั้งแบคทีเรีย *Z. mobilis* ทั้ง 2 สายพันธุ์ยังมีความสามารถที่จะใช้น้ำตาลกลูโคสได้มากกว่าร้อยละ 98 ของน้ำตาลกลูโคสเริ่มต้น อย่างไรก็ตามจากค่าพารามิเตอร์จลนพลศาสตร์ที่ได้จากการทดลอง พบว่าแบคทีเรีย *Z. mobilis* TISTR 548 จะมีความสามารถในการใช้น้ำตาลกลูโคสและการผลิตเอทานอลได้สูงกว่าแบคทีเรีย *Z. mobilis* TISTR 1042

เมื่อใช้น้ำตาลกลูโคสเริ่มต้นเท่ากับ 200 กรัมต่อลิตร พบว่าแบคทีเรีย *Z. mobilis* ทั้ง 2 สายพันธุ์สามารถที่จะใช้น้ำตาลกลูโคสได้ช้ากว่าเมื่อเปรียบเทียบกับการใช้น้ำตาลกลูโคสเริ่มต้นในช่วงระหว่าง 50 –150 กรัมต่อลิตร ซึ่งจากการทดลอง พบว่าระยะเวลาที่ใช้ในหมักของแบคทีเรีย *Z. mobilis* TISTR 548 และแบคทีเรีย *Z.*

mobilis TISTR 1042 จะมีค่าเท่ากับ 36 และ 44 ชั่วโมงตามลำดับ และมีระยะพักตัวนานเท่ากันคือ 8 ชั่วโมง ในขณะที่ Siva Kesava *et al.* (1995) ได้รายงานว่าแบคทีเรีย *Z. mobilis* MTCC 92 จะมีระยะเวลาของการหมักน้ำตาลกลูโคสเข้มข้น 200 กรัมต่อลิตร ประมาณ 45 ชั่วโมง และมีระยะพักตัวนาน 25 ชั่วโมง นอกจากนี้ยังพบว่า การหมักของแบคทีเรีย *Z. mobilis* TISTR 548 จะมีน้ำตาลกลูโคสเหลืออยู่ค่อนข้างสูง (21.12 กรัมต่อลิตร) ในขณะที่แบคทีเรีย *Z. mobilis* TISTR 1042 จะมีน้ำตาลกลูโคสเหลืออยู่ 10.40 กรัมต่อลิตร ในขณะที่ Siva Kesava *et al.* (1995) ได้รายงานว่าจะมีน้ำตาลกลูโคสเหลือจากการหมักประมาณ 12.5 กรัมต่อลิตร สำหรับความเข้มข้นสูงสุดของมวลเซลล์ พบว่าแบคทีเรีย *Z. mobilis* ทั้ง 2 สายพันธุ์จะมีค่าเท่ากับ 3.10 กรัมต่อลิตร ต่ำกว่าที่ Siva Kesava *et al.* (1995) ได้รายงานว่าจะมีค่าเท่ากับ 3.8 กรัมต่อลิตร นอกจากนี้ยังพบว่าผลได้ของมวลเซลล์ของแบคทีเรีย *Z. mobilis* ทั้ง 2 สายพันธุ์จะมีค่าระหว่าง 0.016-0.017 กรัมมวลเซลล์ต่อกรัมน้ำตาลกลูโคสที่ถูกใช้ไป ซึ่งต่ำกว่าที่ Siva Kesava *et al.* (1995) ได้รายงานว่ามีค่าเท่ากับ 0.02 กรัมมวลเซลล์ต่อกรัมน้ำตาลกลูโคสที่ถูกใช้ไปเพียงเล็กน้อย เมื่อพิจารณาค่าอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะของแบคทีเรีย *Z. mobilis* ทั้ง 2 สายพันธุ์ พบว่าจะมีค่าระหว่าง 0.09-0.13 ต่อชั่วโมง สอดคล้องกับการศึกษาของ Siva Kesava *et al.* (1995) ได้รายงานว่ามีค่าเท่ากับ 0.13 ต่อชั่วโมง สำหรับความเข้มข้นสูงสุดของเอทานอล พบว่าแบคทีเรีย *Z. mobilis* ทั้ง 2 สายพันธุ์สามารถที่จะผลิตเอทานอลได้สูงมากกว่า 90 กรัมต่อลิตร ซึ่งสูงมากกว่าที่ Siva Kesava *et al.* (1995) ได้รายงานว่าจะมีค่าเท่ากับ 72.4 กรัมต่อลิตร อย่างไรก็ตามเมื่อเปรียบเทียบผลได้ของเอทานอลของแบคทีเรีย *Z. mobilis* ทั้ง 2 สายพันธุ์ พบว่าแบคทีเรีย *Z. mobilis* TISTR 548 จะมีค่า (0.508 กรัมเอทานอลต่อกรัมน้ำตาลกลูโคสที่ถูกใช้ไป) สูงกว่าแบคทีเรีย *Z. mobilis* TISTR 1042 (0.477 กรัมเอทานอลต่อกรัมน้ำตาลกลูโคสที่ถูกใช้ไป) ในขณะที่ Siva Kesava *et al.* (1995) ได้รายงานว่าจะมีค่าเท่ากับ 0.36 กรัมเอทานอลต่อกรัมน้ำตาลกลูโคสที่ถูกใช้ไป ซึ่งมีค่าต่ำกว่าค่าที่ได้จากการทดลอง อย่างไรก็ตามนนุช ชวพันธุ์ (2529) ได้รายงานว่าแบคทีเรีย *Z. mobilis* CM 141 (ปัจจุบันคือแบคทีเรีย *Z. mobilis* TISTR 548) สามารถที่จะผลิตเอทานอลได้เท่ากับ 91.60 กรัมต่อลิตร จากการหมักน้ำตาลกลูโคสที่มีความเข้มข้นเท่ากับ 200 กรัมต่อลิตร ที่อุณหภูมิ 20° ซ โดยใช้เวลาของการหมักนาน 174 ชั่วโมง ดังนั้นจึงมีความเป็นไปได้ที่แบคทีเรีย *Z. mobilis* TISTR 548 จะมีประสิทธิภาพในการใช้น้ำตาลกลูโคสและผลิตเอทานอลได้เท่ากับค่าที่ได้จากการทดลอง นอกจากนี้นนุช ชวพันธุ์ (2529) ได้รายงานว่าการลดระยะเวลาของการหมักสามารถที่จะทำได้โดยการเพิ่มอุณหภูมิให้มีค่าสูงมากกว่า 20° ซ เพื่อให้เกิดการผลิตเอทานอลได้มากขึ้น ซึ่ง Ohta *et al.* (1981) พบว่าอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการผลิตเอทานอลของแบคทีเรีย *Z. mobilis* subsp. *mobilis* คือ 30° ซ ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองที่ใช้อุณหภูมิของการหมักเท่ากับ 30° ซ รวมทั้งประสิทธิภาพในการผลิตเอทานอลยังขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ของแบคทีเรียและสภาวะแวดล้อมของการเพาะเลี้ยง (Skotnicki *et al.*, 1981) ซึ่งมีสภาวะที่แตกต่างกัน ดังนั้นจากค่าพารามิเตอร์จลนพลศาสตร์ที่ได้จากการทดลองของแบคทีเรีย *Z. mobilis* ทั้ง 2 สายพันธุ์ พบว่าแบคทีเรีย *Z. mobilis* TISTR 548 จะมีความสามารถในการใช้สับสเตรทและผลิตเอทานอลได้สูงกว่าแบคทีเรีย *Z. mobilis* TISTR 1042

เมื่อพิจารณาความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคสที่ใช้ในการทดลองครั้งนี้ พบว่าการเจริญเติบโตและการผลิตเอทานอลของแบคทีเรียจะไม่ถูกยับยั้งเมื่อใช้ความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคสเริ่มต้นที่มีค่ามากถึง 200 กรัมต่อลิตร อย่างไรก็ตามพบว่าระยะเวลาที่ใช้ในการหมักจะมีค่ามากขึ้น (36-44 ชั่วโมง) ซึ่งแสดงให้เห็นว่าเมื่อความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคสเริ่มต้นที่มีค่ามากขึ้นจะทำให้ระยะเวลาของการหมักนานมากขึ้นเช่นกัน

5.2 การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการใช้ในการหมักเพื่อผลิตเอทานอลจากน้ำเชื่อมที่ได้จากการย่อยกากมันสำปะหลังในอาหารเลี้ยงเชื้อสูตรอุดม คัดแปลงสูตรจากวิธีของ Siva Kesava *et al.* (1995) ในระดับขวดเขย่า ขนาด 500 มิลลิลิตร

5.2.1 การศึกษาค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เริ่มต้นที่เหมาะสมที่มีน้ำตาลรีดิวซ์เริ่มต้นเท่ากับ 50 100 และ 150 กรัมต่อลิตร และที่อัตราการเขย่า 0 100 และ 200 รอบต่อนาที

เนื่องจากแบคทีเรีย *Z. mobilis* จัดอยู่ในกลุ่ม Gram-negative facultative anaerobic rods ซึ่งมีความสามารถในการเคลื่อนที่ได้โดยอาศัยแฟลกเจลลาที่ขั้วเซลล์ที่มีอยู่ประมาณ 1-4 อัน (Buchanan *et al.*, 1974; Swing, De Ley, 1977) จากคุณลักษณะดังกล่าวนี้จึงทำให้สามารถสังเกตการเปลี่ยนแปลงการเจริญเติบโตของแบคทีเรียได้จากความขุ่นของมวลเซลล์ที่เกิดขึ้น ซึ่งจะมีลักษณะเป็นกลุ่มก้อนเล็ก ๆ (floc) ในระยะที่มีอาหารอุดมสมบูรณ์ แต่ในสภาวะที่อาหารถูกใช้หมดไปหรือสิ้นสุดการหมักจะพบว่าแบคทีเรียมีการจับกลุ่มกันเป็นก้อนที่ใหญ่มากขึ้น และจะตกตะกอนลงสู่ก้นขวดทดลอง (Barker, Hillier, 1911 อ้างถึงใน Swing, De Ley, 1977) สำหรับการเจริญเติบโตในสภาวะไร้ออกซิเจนอย่างแท้จริง พบว่าแบคทีเรีย *Z. mobilis* สามารถที่จะเปลี่ยนน้ำตาลกลูโคสเป็นเอทานอลได้ในช่วงระหว่าง 1.5-1.9 โมลของเอทานอลต่อ 1 โมลของน้ำตาลกลูโคส (Kluyver, Hoppenbrouwers, 1931 อ้างถึงใน Swing, De Ley, 1977) ดังนั้นจึงทำให้แบคทีเรีย *Z. mobilis* ได้รับความสนใจเป็นอย่างมากสำหรับนำมาใช้เป็นจุลินทรีย์ในการผลิตเอทานอล

สำหรับงานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาการหมักเพื่อผลิตเอทานอลจากน้ำเชื่อมที่ได้จากการย่อยกากมันสำปะหลังโดยแบคทีเรีย *Z. mobilis* ในระดับขวดเขย่า ขนาด 500 มิลลิลิตร และถึงปฏิกรณ์ชีวภาพ แบบถังกวน ขนาด 5 ลิตร โดยจะเน้นถึงปัจจัยภายนอกที่มีผลต่อการหมักและการผลิตเอทานอล สำหรับการศึกษาในระดับขวดเขย่า ขนาด 500 มิลลิลิตร จะศึกษาเกี่ยวกับสูตรของอาหารเลี้ยงเชื้อ ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เริ่มต้น ความเข้มข้นของน้ำตาลรีดิวซ์ และอัตราการเขย่า ในขณะที่ระดับขยายขนาดในถังปฏิกรณ์ชีวภาพแบบถังกวน ขนาด 5 ลิตร จะประกอบด้วยรูปแบบการหมัก 2 แบบคือการหมักแบบกะ และการหมักแบบกึ่งกะ โดยที่การหมักแบบกะ จะเน้นถึงสูตรของอาหารเลี้ยงเชื้อ ความเร็วรอบของใบกวน ปริมาณกล้าเชื้อเริ่มต้น และการหมักในสภาวะควบคุมค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ลงที่ สำหรับการหมักแบบกึ่งกะ จะเน้นถึงรูปแบบของการเติมน้ำตาลรีดิวซ์ในระหว่างที่มีการหมักเพื่อให้สามารถทราบถึงสภาวะที่เหมาะสมที่เกิดขึ้นทั้งหมด ที่จะนำไปสู่การพัฒนากระบวนการผลิตในระดับอุตสาหกรรมต่อไป

สำหรับการศึกษาเพื่อหาค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เริ่มต้นที่เหมาะสมในอาหารเลี้ยงเชื้อสูตร อุดมที่มีน้ำตาลรีดิวซ์เริ่มต้นเท่ากับ 50 กรัมต่อลิตร พบว่าการเพิ่มอัตราการเขย่าตั้งแต่ระดับ 0 รอบต่อนาที จนกระทั่งถึง 200 รอบต่อนาที ไม่ทำให้ประสิทธิภาพของการเปลี่ยนน้ำตาลรีดิวซ์มีความแตกต่างกันอย่างชัดเจน สำหรับที่อัตราการเขย่าเท่ากับ 0 รอบต่อนาที พบว่าประสิทธิภาพของการเปลี่ยนน้ำตาลรีดิวซ์ที่ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เริ่มต้นเท่ากับ 5.5 (ร้อยละ 92.72 ของน้ำตาลรีดิวซ์เริ่มต้น) จะทำให้ได้เอทานอลสูงที่สุดคือ 21.90 กรัมต่อลิตร หรือคิดเป็นผลได้ของเอทานอลเท่ากับ 0.472 กรัมเอทานอลต่อกรัมน้ำตาลรีดิวซ์ที่ถูกใช้ไป ในขณะที่ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เริ่มต้นอื่น ๆ จะมีค่าระหว่าง 20.13-20.98 กรัมต่อลิตร และมีประสิทธิภาพของการเปลี่ยนน้ำตาลรีดิวซ์ในช่วงระหว่างร้อยละ 93-94 ของน้ำตาลรีดิวซ์เริ่มต้น เมื่อเพิ่มอัตราการเขย่าเป็น 100 รอบต่อนาที พบว่าที่

ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เริ่มต้นเท่ากับ 5.5 จะมีประสิทธิภาพของการเปลี่ยนน้ำตาลรีดิวซ์ต่ำกว่า (ร้อยละ 80.90 ของน้ำตาลรีดิวซ์เริ่มต้น) ที่ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เริ่มต้นอื่น ๆ ซึ่งมีค่าระหว่างร้อยละ 88-90 ของน้ำตาลรีดิวซ์เริ่มต้น อย่างไรก็ตามพบว่าที่ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เริ่มต้นเท่ากับ 5.5 จะให้ผลได้ของเอทานอลสูงที่สุด คือ 0.505 กรัมเอทานอลต่อกรัมน้ำตาลรีดิวซ์ที่ถูกใช้ไป ซึ่งสูงมากกว่าที่ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เริ่มต้นอื่น ๆ ที่มีค่าระหว่าง 0.407-0.468 กรัมเอทานอลต่อกรัมน้ำตาลรีดิวซ์ที่ถูกใช้ไป ในขณะที่การใช้อัตราการเขย่าเท่ากับ 200 รอบต่อนาที พบว่าทุกค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เริ่มต้นจะมีประสิทธิภาพของการเปลี่ยนน้ำตาลรีดิวซ์มีค่าใกล้เคียงกับที่อัตราการเขย่าเท่ากับ 0 รอบต่อนาที แต่ความเข้มข้นสูงสุดของเอทานอลที่ได้ พบว่าที่ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เริ่มต้นเท่ากับ 5.5 จะมีค่าสูงที่สุดคือ 20.89 กรัมต่อลิตร หรือคิดเป็นผลได้ของเอทานอลเท่ากับ 0.450 กรัมเอทานอลต่อกรัมน้ำตาลรีดิวซ์ที่ถูกใช้ไป ดังนั้นที่ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เริ่มต้นเท่ากับ 5.5 จึงมีความเหมาะสมที่สุดสำหรับการหมักและผลิตเอทานอลของแบคทีเรีย *Z. mobilis* TISTR 548 ซึ่งสอดคล้องกับ Swings, De Ley (1977) ที่ได้รายงานว่าค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เริ่มต้นที่มีเหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย *Z. mobilis* จะมีค่าในช่วงระหว่าง 5-7 เมื่อเพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อสูตร standard medium แต่ณัฐชวพันธุ์ (2529) ได้รายงานว่าค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เริ่มต้นที่เหมาะสมสำหรับการใช้ในการหมักเพื่อผลิตเอทานอลโดยแบคทีเรีย *Z. mobilis* CM 141 คือ 7.0 และที่อุณหภูมิ 20° ซ อย่างไรก็ตามสภาวะของการเพาะเลี้ยงในการทดลองจะมีอุณหภูมิที่สูงกว่าคือ 30° ซ ซึ่งส่งผลต่อปฏิกิริยาต่าง ๆ ภายในเซลล์ของแบคทีเรียให้เกิดขึ้นได้ดีกว่าและเร็วกว่าการใช้อุณหภูมิต่ำ ๆ (ไพบูลย์ ด่านวิรุทัย, 2520) นอกจากนี้ Swings, De Ley (1977) ได้รายงานว่าแบคทีเรีย *Z. mobilis* สามารถที่จะทนต่อกรดได้สูง (pH 3.4-4.0) ซึ่งจากการทดลอง พบว่าการใช้ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เริ่มต้นเท่ากับ 5.5 ไม่มีผลกระทบต่อผลการเจริญเติบโตและการผลิตเอทานอลของแบคทีเรีย สำหรับค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ที่ใช้ในการทดลองจะแปรผันตามความเหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของแบคทีเรียแต่ละสายพันธุ์หรือเพื่อวัตถุประสงค์ในการทดลองที่มีความแตกต่างกัน ซึ่งจากรายงานการศึกษาเกี่ยวกับการหมักโดยใช้แบคทีเรีย *Z. mobilis* จะมีการใช้ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ในช่วงที่ค่อนข้างกว้างระหว่าง 4.9-6.5 (Siva Kesava *et al.*, 1995; Carto *et al.*, 1995; Sreekumar *et al.*, 1999; Tanaka *et al.*, 1999; Beckers *et al.*, 2000; Krishnan *et al.*, 2000; Amutha, Gunasekaran, 2001; Beckers *et al.*, 2001) ซึ่งจะแปรผันตามคุณลักษณะของสายพันธุ์ของแบคทีเรียและสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการเพาะเลี้ยง

เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของน้ำตาลรีดิวซ์เท่ากับ 100 กรัมต่อลิตร พบว่าค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เริ่มต้นที่เหมาะสมสำหรับการใช้ในการหมักเพื่อผลิตเอทานอลยังคงมีค่าเท่ากับ 5.5 ทั้งนี้เพราะผลได้ของเอทานอลที่ได้ที่ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เริ่มต้นดังกล่าวนี้ที่ใช้อัตราการเขย่า 0 100 และ 200 รอบต่อนาที มีค่าเท่ากับ 0.440 0.437 และ 0.405 กรัมเอทานอลต่อกรัมน้ำตาลรีดิวซ์ที่ถูกใช้ไปตามลำดับ โดยมีประสิทธิภาพของการเปลี่ยนน้ำตาลรีดิวซ์ระหว่างร้อยละ 94-96 ของน้ำตาลรีดิวซ์เริ่มต้น ถึงแม้ว่าที่ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เริ่มต้นอื่น ๆ จะมีประสิทธิภาพของการเปลี่ยนน้ำตาลรีดิวซ์ได้ใกล้เคียงกับที่ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เริ่มต้นเท่ากับ 5.5 ก็ตามแต่จะให้ผลได้ของเอทานอลที่ต่ำกว่า

นอกจากนี้ที่ระดับความเข้มข้นของน้ำตาลรีดิวซ์เท่ากับ 150 กรัมต่อลิตร แบคทีเรีย *Z. mobilis* TISTR 548 ยังสามารถที่จะให้ผลได้ของเอทานอลได้ใกล้เคียงกับการใช้น้ำตาลรีดิวซ์เริ่มต้นเท่ากับ 50 และ 100 กรัมต่อลิตร ซึ่งจากการทดลอง พบว่าที่ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เริ่มต้นเท่ากับ 5.5 จะให้ประสิทธิภาพในการผลิตเอทา

นอล สูงกว่าที่ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เริ่มต้นอื่น ๆ ทั้งนี้เพราะผลได้ของเอทานอลที่ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เริ่มต้นเท่ากับ 5.5 ที่ค่าอัตราการเขย่าเท่ากับ 0 100 และ 200 ซึ่งมีค่าเท่ากับ 0.506 0.380 และ 0.362 กรัมเอทานอลต่อกรัมน้ำตาลรีดิวซ์ที่ถูกใช้ไปตามลำดับ โดยมีประสิทธิภาพของการเปลี่ยนน้ำตาลรีดิวซ์ในช่วงระหว่างร้อยละ 85-96 ของน้ำตาลรีดิวซ์เริ่มต้น ในขณะที่ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เริ่มต้นอื่น ๆ จะมีประสิทธิภาพของการเปลี่ยนน้ำตาลรีดิวซ์ได้ใกล้เคียงกับที่ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เริ่มต้นเท่ากับ 5.5 แต่จะให้ผลได้ของเอทานอลต่ำกว่า อย่างไรก็ตามพบว่าเมื่อเพิ่มอัตราการเขย่ามากขึ้นจะทำให้ผลได้ของเอทานอลมีค่าลดลง ซึ่งแสดงว่าการเขย่ามีแนวโน้มที่จะทำให้การเจริญเติบโตและการผลิตเอทานอลของแบคทีเรียมีค่าลดลง ซึ่งการเขย่าจะมีผลทำให้เกิดการเติมอากาศขึ้นได้ในระหว่างที่มีการหมัก (Atkinson, Mativuna, 1991) แต่เนื่องจากปริมาณของอาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้ในการทดลองมีค่าค่อนข้างสูง (300 มิลลิลิตร ในขวดรูปชมพูนิตพิเศษ ขนาด 500 มิลลิลิตร) จึงทำให้การเติมอากาศที่เกิดขึ้นเนื่องจากการเขย่ามีประสิทธิภาพค่อนข้างต่ำ รวมทั้งมีข้อจำกัดในเรื่องพื้นที่ผิวสัมผัสของอาหารเลี้ยงเชื้อกับอากาศ นอกจากนี้ยังพบว่าแบคทีเรีย *Z. mobilis* TISTR 548 มีความสามารถในการเจริญเติบโตได้ในสภาวะที่มีอากาศเพียงเล็กน้อย จึงทำให้แบคทีเรียไม่ถูกยับยั้งจากอากาศที่มีอยู่ทั้งในอาหารเลี้ยงเชื้อและช่องว่างในขวดหมักในระหว่างที่มีการเขย่า ซึ่งสามารถพิจารณาได้จากประสิทธิภาพของการเปลี่ยนน้ำตาลรีดิวซ์ของทุกค่าความเข้มข้นของน้ำตาลรีดิวซ์ และทุกค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เริ่มต้นที่ใช้ยังคงมีค่าค่อนข้างคงที่ ถึงแม้ว่าจะมีการเปลี่ยนแปลงอัตราการเขย่าก็ตาม อย่างไรก็ตามจากการทดลอง พบว่าการเพิ่มอัตราการเขย่าในช่วงระหว่าง 0-100 รอบต่อนาที จะให้ผลได้ของเอทานอลสูงกว่าที่อัตราการเขย่าเท่ากับ 200 รอบต่อนาที ซึ่ง Ishikawa *et al.* (1990) ได้รายงานว่าอัตราการเจริญเติบโตและอัตราผลผลิตของเอทานอลจะมีค่าลดลงเมื่อมีการให้ก๊าซออกซิเจนเพิ่มสูงมากขึ้น แต่จะให้ผลพลอยได้ที่เป็นอะเซตัลดีไฮด์ และกรดอะซิติกเพิ่มมากขึ้น นอกจากนี้ยังพบว่าอัตราผลผลิตของเอทานอลจะไวต่อก๊าซออกซิเจนมากกว่าอัตราการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย รวมทั้งเซลล์ของแบคทีเรียจะมีลักษณะที่ยาวมากกว่าปกติ (โดยทั่วไปแบคทีเรีย *Z. mobilis* จะมีความยาวในช่วงระหว่าง 2-6 ไมครอน) ซึ่งในสภาวะที่มีก๊าซออกซิเจนนี้จะมีผลทำให้เอนไซม์ NADH ออกซิเดสของแบคทีเรีย *Z. mobilis* สามารถที่จะใช้ NADH ได้ (โดยทั่วไปในอัตรา 2NADH ต่อ $1O_2$) ด้วยเหตุนี้จึงทำให้มี NADH เหลืออยู่น้อยมากจนมีปริมาณไม่เพียงพอสำหรับที่จะนำไปใช้ในปฏิกิริยารีดักชันอะเซตัลดีไฮด์ไปเป็นเอทานอลได้โดยเอนไซม์ แอลกอฮอล์ดีไฮโดรจีเนส I (alcoholdehydrogenase I) (Ishikawa, Tanaka, 1992; Kalnenieks *et al.*, 2002) นอกจากนี้การสะสมของอะเซตัลดีไฮด์ที่มากขึ้นเรื่อย ๆ ในระหว่างการหมักยังมีผลในการยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย *Z. mobilis* เป็นอย่างมาก (Viikari, Korhola, 1986; Wecker, Zall, 1987; Ishikawa *et al.*, 1990 อ้างถึงใน Ishikawa, Tanaka, 1992) ดังนั้นการหมักในสภาวะที่มีอัตราการเขย่าต่ำ ๆ หรือในสภาวะนิ่ง ๆ จึงมีแนวโน้มที่ดีกว่า รวมทั้งการใช้ปริมาณอาหารเลี้ยงเชื้อสูง ๆ หรือการให้มีพื้นที่ผิวสัมผัสของอาหารเลี้ยงเชื้อกับอากาศมีน้อยที่สุด

สำหรับองค์ประกอบที่เติมลงในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้ในการทดลอง ซึ่งได้แก่ yeast extract และ peptone สำหรับใช้เป็นแหล่งของไนโตรเจนและเกลือแร่ต่าง ๆ (Siva Kesava *et al.*, 1995) สำหรับการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย อย่างไรก็ตามจากการทดลอง พบว่าอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะของแบคทีเรียมีค่าค่อนข้างคงที่โดยไม่แปรผันตามความเข้มข้นของน้ำตาลรีดิวซ์ที่เพิ่มสูงขึ้น ทั้งนี้เพราะว่าเมื่อใช้น้ำตาลรีดิวซ์เริ่มต้นเท่ากับ 50 กรัมต่อลิตร ที่ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เริ่มต้นเท่ากับ 5.5 6.0 6.5 และ 7.0 และที่อัตราการเขย่าเท่ากับ 0 รอบต่อนาที

พบว่าอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะจะมีค่าค่อนข้างต่ำระหว่าง 0.18-0.29 ต่อชั่วโมง จากนั้นเมื่อเพิ่มอัตราการเขย่าเป็น 100 รอบต่อนาที พบว่าอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะยังคงมีค่าไม่เปลี่ยนแปลงโดยจะมีค่าในช่วงระหว่าง 0.15-0.22 ต่อชั่วโมง และที่ค่าอัตราการเขย่าเท่ากับ 200 รอบต่อนาที พบว่าจะมีค่าระหว่าง 0.20-0.23 ต่อชั่วโมง ซึ่งมีค่าค่อนข้างคงที่ไม่เปลี่ยนแปลงตามอัตราการเขย่าที่เพิ่มสูงขึ้น นอกจากนี้ยังสอดคล้องกับประสิทธิภาพของการเปลี่ยนน้ำตาลรีดิวซ์ที่มีค่าไม่เปลี่ยนแปลงตามอัตราการเขย่าที่เพิ่มสูงขึ้น อย่างไรก็ตามจากการศึกษาของ Siva Kesava *et al.* (1995) พบว่าแบคทีเรีย *Z. mobilis* MTCC 92 จะมีค่าอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะเท่ากับ 0.52 ต่อชั่วโมง เมื่อเพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อสูตร cultivation medium ที่มีความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคสเริ่มต้นเท่ากับ 50 กรัมต่อลิตร ที่อัตราการเขย่าเท่ากับ 160 รอบต่อนาที ซึ่งมีค่าสูงกว่าอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะที่ได้จากการทดลองทุกค่าอัตราการเขย่าประมาณ 2 เท่า แต่ประสิทธิภาพของการเปลี่ยนน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการทดลองจะมีค่าสูงกว่าจากการศึกษาของ Siva Kesava *et al.* (1995) อย่างไรก็ตามเมื่อพิจารณาองค์ประกอบของน้ำเชื่อมที่ใช้ในการทดลอง พบว่ายังไม่สามารถที่จะจำแนกองค์ประกอบของน้ำเชื่อมได้อย่างชัดเจน นอกจากนี้ยังมีโอกาสที่จะมีสารปนเปื้อนบางอย่างปะปนอยู่ในน้ำเชื่อมในความเข้มข้นที่สูง ซึ่งสารปนเปื้อนต่าง ๆ เหล่านี้มีโอกาสที่จะมีผลในการยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียได้ อย่างไรก็ตามเมื่อพิจารณาผลได้ของมวลเซลล์จากการทดลองเมื่อใช้น้ำตาลรีดิวซ์เริ่มต้นเท่ากับ 50 กรัมต่อลิตร ที่ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เริ่มต้นเท่ากับ 5.5 6.0 6.5 และ 7.0 และที่ค่าอัตราการเขย่าเท่ากับ 0 รอบต่อนาที พบว่าผลได้ของมวลเซลล์จะมีค่าระหว่าง 0.05-0.06 กรัมมวลเซลล์ต่อกรัม น้ำตาลรีดิวซ์ที่ถูกใช้ไป และเมื่อเพิ่มอัตราการเขย่าเป็น 100 รอบต่อนาที พบว่าจะมีค่าระหว่าง 0.04-0.06 กรัมมวลเซลล์ต่อกรัม น้ำตาลรีดิวซ์ที่ถูกใช้ไป และที่อัตราการเขย่าเท่ากับ 200 รอบต่อนาที พบว่าจะมีค่าประมาณ 0.04 กรัมมวลเซลล์ต่อกรัม น้ำตาลรีดิวซ์ที่ถูกใช้ไป ซึ่งมีค่าใกล้เคียงกับการศึกษาของ Siva Kesava *et al.* (1995) ที่ได้รายงานว่าจะมีค่าเท่ากับ 0.04 กรัมมวลเซลล์ต่อกรัม น้ำตาลกลูโคสที่ถูกใช้ไป อย่างไรก็ตามเมื่ออัตราการเขย่าเพิ่มสูงมากขึ้นจะทำให้ผลได้ของมวลเซลล์มีแนวโน้มที่ลดลง ซึ่งสอดคล้องกับผลได้ของเอทานอลที่มีค่าลดลงเมื่อค่าอัตราการเขย่าเท่ากับ 200 รอบต่อนาที อย่างไรก็ตามถึงแม้จะมีอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะที่ต่ำ แต่การผลิตเอทานอลยังคงมีค่าคงที่หรือเปลี่ยนแปลงน้อยมากเมื่อเพิ่มอัตราการเขย่า สำหรับการเพิ่มความเข้มข้นของน้ำตาลรีดิวซ์เริ่มต้นเท่ากับ 100 กรัมต่อลิตร พบว่าอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะของค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เริ่มต้นแต่ละค่าจะมีค่าค่อนข้างคงที่ถึงแม้จะมีการเพิ่มอัตราการเขย่า โดยที่ค่าอัตราการเขย่าเท่ากับ 0 รอบต่อนาที ที่ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เริ่มต้นเท่ากับ 5.5 6.0 6.5 และ 7.0 จะมีค่าอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะระหว่าง 0.20-0.22 ต่อชั่วโมง เมื่อเพิ่มอัตราการเขย่าเป็น 100 รอบต่อนาที พบว่าจะมีค่าระหว่าง 0.18-0.22 ต่อชั่วโมง และที่อัตราการเขย่าเท่ากับ 200 รอบต่อนาที จะมีค่าระหว่าง 0.35-0.38 ต่อชั่วโมง ซึ่งมีค่าค่อนข้างสูงกว่าที่อัตราการเขย่า 0 และ 100 รอบต่อนาที ซึ่งมีค่าใกล้เคียงกับการศึกษาของ Siva Kesava *et al.* (1995) ที่ได้รายงานว่าการเจริญเติบโตจำเพาะของแบคทีเรีย *Z. mobilis* MTCC 92 จะมีค่าเท่ากับ 0.22 ต่อชั่วโมง เมื่อเพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อสูตร cultivation medium ที่มีความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคสเริ่มต้นเท่ากับ 100 กรัมต่อลิตร และผลได้ของมวลเซลล์จะมีค่าเท่ากับ 0.02 กรัมมวลเซลล์ต่อกรัม น้ำตาลกลูโคสที่ถูกใช้ไป ซึ่งมีค่าสอดคล้องกับการทดลองที่มีค่าระหว่าง 0.02-0.04 กรัมมวลเซลล์ต่อกรัม น้ำตาลรีดิวซ์ที่ถูกใช้ไป เมื่อเพาะเลี้ยงแบคทีเรียที่ค่าอัตราการเขย่าตั้งแต่ 0 ถึง 200 รอบต่อนาที สำหรับความเข้มข้นของน้ำตาลรีดิวซ์เริ่มต้นเท่ากับ 150 กรัมต่อลิตร พบว่าค่าอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะจะมีค่าเปลี่ยนแปลงเพียงเล็กน้อยเมื่อเพิ่มอัตราการเขย่าจาก 0 ถึง 200 รอบต่อนาที ของทุกค่าความเป็น

กรด-ด่าง (pH) เริ่มต้น โดยจะมีค่าในช่วงระหว่าง 0.10-0.30 ต่อชั่วโมง สำหรับผลได้ของมวลเซลล์ พบว่าจะมีค่าแตกต่างกันน้อยมากคือ จะมีค่าในช่วงระหว่าง 0.02-0.03 กรัมมวลเซลล์ต่อกรัมน้ำตาลรีดิวซ์ที่ถูกใช้ไป ซึ่งมีค่าใกล้เคียงกับการศึกษาของ Siva Kesava *et al.* (1995) ที่ได้รายงานว่าอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะของแบคทีเรีย *Z. mobilis* MTCC 92 จะมีค่าเท่ากับ 0.17 ต่อชั่วโมง เมื่อเพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อสูตร cultivation medium ที่มีความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคสเริ่มต้นเท่ากับ 150 กรัมต่อลิตร และผลได้ของมวลเซลล์จะมีค่าเท่ากับ 0.02 กรัมมวลเซลล์ต่อกรัมน้ำตาลกลูโคสที่ถูกใช้ไป

ดังนั้นจากผลการทดลองที่ได้ สามารถสรุปได้ว่าเมื่อใช้ความเข้มข้นของน้ำตาลรีดิวซ์เริ่มต้นมีค่าเพิ่มสูงขึ้น การเพิ่มระดับอัตราการขยายที่ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เริ่มต้นต่าง ๆ (5.5-7.0) จะมีผลทำให้อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะและผลได้ของมวลเซลล์มีแนวโน้มที่ลดลง ในขณะที่ผลได้ของเอทานอลมีแนวโน้มที่เพิ่มสูงขึ้นโดยเฉพาะเมื่อใช้อัตราการขยายในช่วงระหว่าง 0-100 รอบต่อนาที แต่เมื่อเพิ่มอัตราการขยายเป็น 200 รอบต่อนาที พบว่าผลได้ของเอทานอลจะมีค่าลดลง อย่างไรก็ตามเมื่อเปรียบเทียบสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการหมักและผลิตเอทานอล พบว่าการเลือกใช้ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เริ่มต้นในช่วงระหว่าง 5.5-6.5 จะผลได้ของเอทานอลสูงที่สุด

5.2.2 การศึกษาความเข้มข้นของน้ำตาลรีดิวซ์เริ่มต้นและอัตราการขยายที่เหมาะสม

จากการศึกษาเพื่อหาความเข้มข้นของน้ำตาลรีดิวซ์และอัตราการขยายที่เหมาะสม โดยใช้อาหารเลี้ยงเชื้อสูตรอุดมที่จะระดับความเข้มข้นของน้ำตาลรีดิวซ์เริ่มต้นเท่ากับ 50 100 และ 150 กรัมต่อลิตร และที่อัตราการขยายเท่ากับ 0 100 และ 200 รอบต่อนาที ตามลำดับ โดยใช้ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เริ่มต้นของอาหารเลี้ยงเชื้อเท่ากับ 5.5 พบว่าเมื่อใช้น้ำตาลรีดิวซ์เริ่มต้นเท่ากับ 50 กรัมต่อลิตร ประสิทธิภาพของการเปลี่ยนน้ำตาลรีดิวซ์จะมีค่าประมาณร้อยละ 94 ของน้ำตาลรีดิวซ์เริ่มต้น ของทุกค่าอัตราการขยาย ในขณะที่ผลได้ของเอทานอลแต่ละทุกค่าอัตราการขยายจะมีค่าใกล้เคียงกันในช่วงระหว่าง 0.439-0.456 กรัมเอทานอลต่อกรัมน้ำตาลรีดิวซ์ที่ถูกใช้ไป สำหรับผลได้ของมวลเซลล์ พบว่าจะมีค่าใกล้เคียงกันในช่วงระหว่าง 0.039-0.044 กรัมมวลเซลล์ต่อกรัมน้ำตาลรีดิวซ์ที่ถูกใช้ไป อย่างไรก็ตามที่ค่าอัตราการขยายเท่ากับ 200 รอบต่อนาที จะให้ผลได้ของเอทานอลสูงที่สุด เมื่อเพิ่มระดับความเข้มข้นของน้ำตาลรีดิวซ์เริ่มต้นเท่ากับ 100 กรัมต่อลิตร พบว่าอัตราการขยายไม่มีผลต่อประสิทธิภาพของการเปลี่ยนน้ำตาลรีดิวซ์เช่นเดียวกันกับการใช้ความเข้มข้นของน้ำตาลรีดิวซ์เริ่มต้นเท่ากับ 50 กรัมต่อลิตร ทั้งนี้เพราะว่าประสิทธิภาพของการเปลี่ยนน้ำตาลรีดิวซ์ของทุกค่าอัตราการขยายจะมีค่าประมาณร้อยละ 93 ของน้ำตาลรีดิวซ์เริ่มต้น และมีผลได้ของเอทานอลในช่วงระหว่าง 0.433-0.463 กรัมเอทานอลต่อกรัมน้ำตาลรีดิวซ์ที่ถูกใช้ไป สำหรับผลได้ของมวลเซลล์ พบว่าจะมีค่าใกล้เคียงกันในช่วงระหว่าง 0.025-0.036 กรัมมวลเซลล์ต่อกรัมน้ำตาลรีดิวซ์ที่ถูกใช้ไป ซึ่งพบว่าจะมีค่าลดลงจากการใช้น้ำตาลรีดิวซ์เริ่มต้นเท่ากับ 50 กรัมต่อลิตร อย่างไรก็ตามที่ค่าอัตราการขยายเท่ากับ 100 รอบต่อนาที จะให้ผลได้ของเอทานอลสูงที่สุด เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของน้ำตาลรีดิวซ์เริ่มต้นเท่ากับ 150 กรัมต่อลิตร พบว่าอัตราการขยายไม่มีผลต่อประสิทธิภาพของการเปลี่ยนน้ำตาลรีดิวซ์ของทุกค่าอัตราการขยายเช่นเดียวกันกับการใช้น้ำตาลรีดิวซ์เริ่มต้นเท่ากับ 50 และ 100 กรัมต่อลิตร ทั้งนี้เพราะทุกค่าอัตราการขยายจะมีค่าประสิทธิภาพของการเปลี่ยนน้ำตาลรีดิวซ์ประมาณร้อยละ 95 ของน้ำตาลรีดิวซ์เริ่มต้น ในขณะที่ผลได้ของเอทานอลมีค่าลดลงในช่วงระหว่าง 0.395-0.400 กรัมเอทานอลต่อกรัม

น้ำตาลรีดิวซ์ที่ถูกใช้ไปเช่นเดียวกันกับผลได้ของมวลเซลล์ ซึ่งจะมีค่าค่อนข้างต่ำในช่วงระหว่าง 0.020-0.025 กรัมมวลเซลล์ต่อกรัมน้ำตาลรีดิวซ์ที่ถูกใช้ไป สำหรับอัตราการเขย่าที่ทำให้ได้ผลได้ของเอทานอลสูงที่สุดคือ 200 รอบต่อนาที อย่างไรก็ตามเมื่อพิจารณาความเข้มข้นของน้ำตาลรีดิวซ์เริ่มต้นและอัตราการเขย่าที่ใช้ในการทดลองพบว่า การเลือกใช้น้ำตาลรีดิวซ์เริ่มต้นเท่ากับ 100 กรัมต่อลิตร และที่อัตราการเขย่าเท่ากับ 100 รอบต่อนาที จะให้ผลได้ของเอทานอลสูงที่สุดคือ 0.463 กรัมเอทานอลต่อกรัมน้ำตาลรีดิวซ์ที่ถูกใช้ไป นอกจากนี้จากการทดลองพบว่าเมื่อความเข้มข้นของน้ำตาลรีดิวซ์มีค่าเพิ่มสูงขึ้น อัตราการเขย่าจะไม่มีผลต่อประสิทธิภาพของการเปลี่ยนน้ำตาลรีดิวซ์ แต่จะมีผลต่อผลได้ของมวลเซลล์ และผลได้ของเอทานอลที่มีค่าลดลงและเพิ่มสูงขึ้นตามลำดับ อย่างไรก็ตามการเขย่าในระดับที่เหมาะสม สามารถที่จะเพิ่มประสิทธิภาพในการใช้น้ำตาลรีดิวซ์และผลิตเอทานอลได้มากขึ้น ซึ่งจากการทดลองจะให้ผลการทดลองสอดคล้องกับการศึกษาของ Siva Kesava *et al.* (1995) ที่ได้รายงานว่าการเพิ่มความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคสตั้งแต่ 50-150 กรัมต่อลิตร ในอาหารเลี้ยงเชื้อสูตร cultivation medium ที่อัตราการเขย่า 160 รอบต่อนาที จะมีผลทำให้ประสิทธิภาพของการเปลี่ยนน้ำตาลกลูโคสเพิ่มสูงขึ้นระหว่างร้อยละ 89.9-94.7 ของน้ำตาลกลูโคสเริ่มต้น ในขณะที่ผลได้ของเอทานอลมีแนวโน้มที่เพิ่มสูงขึ้นเช่นเดียวกันคือระหว่าง 0.48-0.50 กรัมเอทานอลต่อกรัมน้ำตาลกลูโคสที่ถูกใช้ไป แต่แนวโน้มของผลได้ของมวลเซลล์มีค่าลดลงจาก 0.04 กรัมมวลเซลล์ต่อกรัมน้ำตาลกลูโคสที่ถูกใช้ไปเป็น 0.02 กรัมมวลเซลล์ต่อกรัมน้ำตาลกลูโคสที่ถูกใช้ไป รวมทั้งอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะยังมีค่าลดลงเช่นเดียวกันจาก 0.52 ต่อชั่วโมงเป็น 0.17 ต่อชั่วโมง ดังนั้นการเพิ่มอัตราการเขย่าจะไม่มีผลกระทบต่อการใช้น้ำตาลรีดิวซ์ของแบคทีเรียที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ แต่จะมีผลทำให้ผลได้ของมวลเซลล์ รวมทั้งอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะจะมีแนวโน้มที่ลดลง ในขณะที่ผลได้ของเอทานอลมีแนวโน้มที่เพิ่มขึ้น

อย่างไรก็ตามจากการทดลอง พบว่าเมื่อความเข้มข้นของน้ำตาลรีดิวซ์มีค่าเพิ่มสูงมากขึ้น จะทำให้ระยะเวลาที่ใช้ในการหมักนานมากขึ้นเช่นกัน แต่เมื่อเปรียบเทียบผลได้ของเอทานอลและอัตราผลผลิตของเอทานอล พบว่าที่ความเข้มข้นของน้ำตาลรีดิวซ์เริ่มต้นเท่ากับ 50 และ 100 กรัมต่อลิตร จะให้ค่าพารามิเตอร์จลนพลศาสตร์ทั้ง 2 ค่าใกล้เคียงกัน ในขณะที่การใช้น้ำตาลรีดิวซ์เริ่มต้นเท่ากับ 150 กรัมต่อลิตรจะให้ค่าผลได้ของเอทานอลมีค่าต่ำกว่า แต่จะให้ค่าอัตราผลผลิตของเอทานอลสูงกว่าการใช้น้ำตาลรีดิวซ์เริ่มต้นที่ 50 และ 100 กรัมต่อลิตร ซึ่งแสดงให้เห็นว่าการใช้น้ำตาลรีดิวซ์เริ่มต้นเท่ากับ 150 กรัมต่อลิตร จะมีประสิทธิภาพค่อนข้างต่ำสำหรับการผลิตเอทานอล ดังนั้นการใช้น้ำตาลรีดิวซ์ที่มีความเข้มข้นต่ำ ๆ จะมีประสิทธิภาพในการผลิตเอทานอลได้สูงกว่า

เนื่องจากน้ำเชื่อมที่ได้จากการย่อยกากมันสำปะหลังด้วยเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส และอะไมโลกลูโคซิเดส ที่ใช้ในการทดลองมีน้ำตาลรีดิวซ์ที่เป็นน้ำตาลกลูโคสเป็นส่วนใหญ่ จึงจัดเป็นแหล่งวัตถุดิบที่ดีสำหรับนำไปใช้ในกระบวนการผลิตผลิตภัณฑ์ต่าง ๆ ทางอุตสาหกรรมได้ แต่เนื่องจากมีข้อจำกัดในเรื่ององค์ประกอบที่ยังไม่สามารถจำแนกได้ทั้งในแง่ของปริมาณและคุณภาพได้ จึงทำให้การผลิตผลิตภัณฑ์ต่าง ๆ จากน้ำเชื่อมมีข้อจำกัดเพิ่มมากขึ้นทั้งในแง่ของผลิตภัณฑ์ และกระบวนการผลิตที่ต้องมีการพัฒนาและปรับปรุงต่อไปเพื่อให้สามารถผลิตผลิตภัณฑ์ได้อย่างกว้างขวางมากขึ้นนอกเหนือจากการผลิตเอทานอล

5.3 การศึกษาแหล่งไนโตรเจนที่เหมาะสมสำหรับการหมักเพื่อผลิตเอทานอลในอาหารเลี้ยงเชื้อ สูตรปรับตำในระดับขวดเย้า ขนาด 500 มิลลิลิตร

เพื่อลดค่าใช้จ่ายสำหรับการเตรียมสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อแบบอุดม การศึกษาเพื่อหาสูตรอาหารที่เหมาะสมสำหรับการหมักเพื่อผลิตเอทานอลในระดับอุตสาหกรรมจึงนิยมใช้อาหารเลี้ยงเชื้อแบบปรับตำ ซึ่งจากการทดลองเปรียบเทียบแหล่งของไนโตรเจน 2 แหล่งซึ่งได้แก่ $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ และ NH_4Cl ที่ระดับความเข้มข้น 1 กรัมต่อลิตร พบว่าการใช้ NH_4Cl แบคทีเรีย *Z. mobilis* TISTR 548 สามารถที่จะเปลี่ยนน้ำตาลรีดิวซ์ได้มากกว่าร้อยละ 95 ของน้ำตาลรีดิวซ์เริ่มต้น ซึ่งมีค่าใกล้เคียงกับการใช้ $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ และผลได้ของเอทานอลที่ได้ พบว่าการใช้ NH_4Cl จะให้ค่าสูงกว่า (0.419 กรัมเอทานอลต่อกรัมน้ำตาลรีดิวซ์ที่ถูกใช้ไป) การใช้ $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ (0.412 กรัมเอทานอลต่อกรัมน้ำตาลรีดิวซ์ที่ถูกใช้ไป) เพียงเล็กน้อย ในขณะที่ผลได้ของมวลเซลล์จากการใช้ NH_4Cl จะให้ค่าสูงกว่า (0.035 กรัมมวลเซลล์ต่อกรัมน้ำตาลรีดิวซ์ที่ถูกใช้ไป) การใช้ $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ (0.033 กรัมมวลเซลล์ต่อกรัมน้ำตาลรีดิวซ์ที่ถูกใช้ไป) เช่นเดียวกัน สำหรับอาหารเลี้ยงเชื้อที่ไม่เติมแหล่งไนโตรเจน แบคทีเรียสามารถที่จะผลิตเอทานอลได้ใกล้เคียงกับอาหารที่เติมแหล่งไนโตรเจนทั้ง 2 ชนิด ซึ่งจะมีผลได้ของเอทานอลเท่ากับ 0.403 กรัมเอทานอลต่อกรัมน้ำตาลรีดิวซ์ที่ถูกใช้ไป แต่จะมีผลได้ของมวลเซลล์ค่อนข้างต่ำกว่าซึ่งมีค่าเท่ากับ 0.024 กรัมมวลเซลล์ต่อกรัมน้ำตาลรีดิวซ์ที่ถูกใช้ไป อย่างไรก็ตามจากการทดลอง พบว่าแหล่งไนโตรเจนยังมีความสำคัญและจำเป็นสำหรับการเจริญเติบโตและผลิตเอทานอลของแบคทีเรีย ทั้งนี้เพราะผลได้ของเอทานอลที่ได้เมื่อเติมแหล่งไนโตรเจนจะมีค่าสูงกว่าผลได้ของเอทานอลที่ไม่เติมแหล่งไนโตรเจน สำหรับความเข้มข้นที่ใช้โดยทั่วไปจะมีค่าเท่ากับ 1 กรัมต่อลิตร สำหรับการพิจารณาแหล่งไนโตรเจนที่มีแนวโน้มที่จะนำไปใช้ได้เหมาะสมที่สุด พบว่าการเลือกใช้ NH_4Cl จะให้ผลได้ของเอทานอลสูงกว่าการเลือกใช้ $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ แต่โดยทั่วไปจะนิยมใช้ $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ แทน NH_4Cl ทั้งนี้เพราะองค์ประกอบของ NH_4Cl มีผลทำให้การเจริญเติบโตของแบคทีเรียลดลงซึ่ง Tanaka *et al.* (1999) ได้รายงานว่าอัตราการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย *Z. mobilis* จะมีค่าเป็นครึ่งหนึ่งของการใช้ yeast extract แต่ Belaich, Senez (1965 อ้างถึงใน Swings, De Ley, 1977) พบว่าผลได้ของเอทานอลที่เกิดขึ้นจะมีค่าแตกต่างเพียงเล็กน้อยจากอาหารเลี้ยงเชื้อที่เติมทั้ง yeast extract และ Peptone ดังนั้น NH_4Cl สามารถที่จะนำมาใช้เป็นแหล่งไนโตรเจนได้นอกเหนือจากการใช้ $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ เพียงชนิดเดียวที่นิยมใช้กันโดยทั่วไป อย่างไรก็ตามการศึกษารายละเอียดของน้ำเชื่อมที่ได้จากการย่อยกากมันสำปะหลังให้ละเอียดมากขึ้น จะทำให้ทราบถึงข้อจำกัดรวมทั้งการกำจัดการที่ไม่ต้องการออกจากร้านเชื่อมก่อนที่จะนำมาใช้ในการหมักต่อไป นอกจากนี้ยังสามารถที่จะลดต้นทุนของการผลิตเอทานอลได้ โดยการไม่เติมแหล่งไนโตรเจน โดยพิจารณาจากผลได้ของเอทานอลจากการใช้อาหารเลี้ยงเชื้อทั้ง 3 สูตร ซึ่งการไม่เติมแหล่งไนโตรเจนจะมีค่าต่ำกว่าการเติมแหล่งไนโตรเจนอยู่เพียงเล็กน้อย ดังนั้นแนวทางหนึ่งในการลดต้นทุนของการผลิตเอทานอลลงก็คือ การใช้อาหารเลี้ยงเชื้อที่ไม่เติมแหล่งไนโตรเจนมาใช้ในการหมักโดยตรง ซึ่งเป็นวิธีการที่สามารถนำไปใช้ได้อย่างต่อเนื่องหลังจากที่ได้น้ำเชื่อมจากการย่อยกากมันสำปะหลัง นอกจากนี้ยังพบว่าค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ของน้ำเชื่อม ซึ่งจะมีค่าในช่วงระหว่าง 4-5 แบคทีเรีย *Z. mobilis* สามารถที่จะเจริญเติบโตได้ โดยที่ไม่ต้องมีการปรับสภาพค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ก่อนทำการหมัก ซึ่งจะลดระยะเวลาในการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อได้ และทำให้กระบวนการผลิตเอทานอลเป็นไปอย่างต่อเนื่องและรวดเร็ว

5.4 การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการหมักเพื่อผลิตเอทานอลในอาหารเลี้ยงเชื้อสูตรปรับต่ำในถังปฏิกรณ์ชีวภาพแบบถังกวน ขนาด 5 ลิตร

5.4.1 การศึกษาการหมักแบบกะ

การขยายระดับการผลิตเอทานอลจากระดับขวดเขย่า 500 มิลลิลิตรในอาหารเลี้ยงเชื้อสูตรปรับต่ำ มาเป็นถังปฏิกรณ์ชีวภาพแบบถังกวน ขนาด 5 ลิตร ทำการศึกษาประสิทธิภาพของการผลิตเอทานอลโดยแปรผันความเร็วรอบของใบกวน พบว่าการใช้ความเร็วรอบของใบกวนตั้งแต่ 50-200 รอบต่อนาที จะให้ประสิทธิภาพของการเปลี่ยนน้ำตาลรีดิวซ์ใกล้เคียงกันระหว่างร้อยละ 96.84-97.55 ของน้ำตาลรีดิวซ์เริ่มต้น ซึ่งมีค่าสูงมากกว่าในระดับขวดเขย่า ขนาด 500 มิลลิลิตรที่มีค่าระหว่างร้อยละ 95.40-95.67 ของน้ำตาลรีดิวซ์เริ่มต้นเพียงเล็กน้อย เมื่อพิจารณาผลได้ของเอทานอล พบว่าจะมีค่าระหว่าง 0.419-0.444 กรัมเอทานอลต่อกรัมน้ำตาลรีดิวซ์ที่ถูกใช้ไป ซึ่งมีค่าสูงกว่าในระดับขวดเขย่า ขนาด 500 มิลลิลิตรเพียงเล็กน้อย ที่มีค่าระหว่าง 0.403-0.419 กรัมเอทานอลต่อกรัมน้ำตาลรีดิวซ์ที่ถูกใช้ไป อย่างไรก็ตามจากการทดลอง พบว่าการใช้อาหารเลี้ยงเชื้อปริมาตร 4 ลิตรจะช่วยลดพื้นที่ว่างภายในถังปฏิกรณ์ชีวภาพแบบถังกวนได้มากเพียงพอ ซึ่งช่วยลดการแพร่ของอากาศลงในอาหารเลี้ยงเชื้อได้ในระหว่างการหมักได้ จึงทำให้สภาวะของการหมักมีความเหมาะสมสำหรับการเจริญเติบโตและผลิตเอทานอลของแบคทีเรีย นอกจากนี้พบว่าผลได้ของมวลเซลล์ที่ได้จะมีค่าระหว่าง 0.025-0.030 กรัมมวลเซลล์ต่อกรัมน้ำตาลรีดิวซ์ที่ถูกใช้ไป ซึ่งมีค่าใกล้เคียงกับผลได้ของมวลเซลล์ในระดับขวดเขย่า ขนาด 500 มิลลิลิตร ที่มีค่าระหว่าง 0.024-0.035 กรัมมวลเซลล์ต่อกรัมน้ำตาลรีดิวซ์ที่ถูกใช้ไป ซึ่งแสดงว่าการหมักในระดับขยายขนาดมีประสิทธิภาพใกล้เคียงกับการหมักในระดับขวดเขย่า ขนาด 500 มิลลิลิตร อย่างไรก็ตามที่ความเร็วรอบของใบกวนเท่ากับ 100 รอบต่อนาที จะให้ประสิทธิภาพในการผลิตเอทานอลสูงสุดคือ 0.444 กรัมเอทานอลต่อกรัมน้ำตาลรีดิวซ์ที่ถูกใช้ไป ซึ่งมีค่าใกล้เคียงกับที่ Siva Kesava *et al.* (1995) ที่ได้รายงานว่าจะมีผลได้ของเอทานอลเท่ากับ 0.46 กรัมเอทานอลต่อกรัมน้ำตาลกลูโคสที่ถูกใช้ไป จากการใช้น้ำตาลกลูโคสเริ่มต้นเท่ากับ 100 กรัมต่อลิตร ในอาหารเลี้ยงเชื้อสูตร cultivation medium ซึ่งเป็นอาหารสูตรอุดมในระดับขวดเขย่า ขนาด 250 มิลลิลิตร ในขณะที่ Park, Baratti (1993) ได้รายงานว่าผลได้ของเอทานอลจะมีค่าเท่ากับ 0.48 กรัมเอทานอลต่อกรัมน้ำตาลกลูโคสที่ถูกใช้ไป จากการใช้น้ำตาลกลูโคสเริ่มต้นเท่ากับ 111 กรัมต่อลิตร ในอาหารเลี้ยงเชื้อสูตรอุดมในถังปฏิกรณ์ชีวภาพ ขนาด 2 ลิตรและจะให้ผลได้ของมวลเซลล์ (0.029 กรัมมวลเซลล์ต่อกรัมน้ำตาลกลูโคสที่ถูกใช้ไป) ใกล้เคียงกับผลได้ของมวลเซลล์ที่ได้จากการทดลอง อย่างไรก็ตามสภาวะของการหมักมีความแตกต่างกัน โดยเฉพาะการใช้ปริมาณกลีเซอรีนเริ่มต้น ซึ่งได้ทำการศึกษาปริมาณกลีเซอรีนเริ่มต้นสำหรับใช้ในการหมัก 3 ระดับ ซึ่งได้แก่ร้อยละ 10 15 และ 20 (โดยปริมาตร) ตามลำดับ จากการทดลองพบว่าการใช้ปริมาณกลีเซอรีนเริ่มต้นร้อยละ 10 และ 15 (โดยปริมาตร) จะมีประสิทธิภาพของการเปลี่ยนน้ำตาลรีดิวซ์สูงกว่าการใช้ปริมาณกลีเซอรีนเริ่มต้นร้อยละ 20 (โดยปริมาตร) โดยที่การใช้ปริมาณกลีเซอรีนเริ่มต้นร้อยละ 10 และ 15 (โดยปริมาตร) จะมีประสิทธิภาพของการเปลี่ยนน้ำตาลรีดิวซ์ในช่วงระหว่างร้อยละ 96.25-96.97 ของน้ำตาลรีดิวซ์เริ่มต้น ในขณะที่การใช้ปริมาณกลีเซอรีนเริ่มต้นเท่ากับร้อยละ 20 (โดยปริมาตร) จะมีค่าเท่ากับร้อยละ 95.12 ของน้ำตาลรีดิวซ์เริ่มต้น อย่างไรก็ตามผลได้ของเอทานอลที่ใช้ปริมาณกลีเซอรีนเริ่มต้นเท่ากับร้อยละ 20 (โดยปริมาตร) จะมีค่าสูงสุดคือ 0.436 กรัมเอทานอลต่อกรัมน้ำตาลกลูโคสที่ถูกใช้ไป ทั้งนี้เพราะมีปริมาณกลีเซอรีนเริ่มต้นที่สูงกว่าจึงมีความเป็นไปได้ที่จะผลิตเอทานอลได้สูงกว่า นอกจากนี้ยังพบว่าผลได้ของมวลเซลล์ยังมีค่าสูงกว่า (0.028 กรัมมวลเซลล์ต่อกรัม

น้ำตาลรีดิวซ์ที่ถูกใช้ไป) กับการใช้ปริมาณกลีเซอรีนเริ่มต้นเท่ากับร้อยละ 10 และ 15 (โดยปริมาตร) ที่มีค่าระหว่าง 0.023-0.025 กรัมมวลเซลล์ต่อกรัมน้ำตาลรีดิวซ์ที่ถูกใช้ไป อย่างไรก็ตามเมื่อเปรียบเทียบผลได้ของเอทานอล พบว่าการใช้ปริมาณกลีเซอรีนเริ่มต้นเท่ากับร้อยละ 20 (โดยปริมาตร) จะมีค่าสูงกว่าการใช้ปริมาณกลีเซอรีนเริ่มต้นเท่ากับร้อยละ 10 และ 15 (โดยปริมาตร) อยู่เพียงเล็กน้อย แต่เมื่อเปรียบเทียบอัตราผลผลิตของเอทานอล พบว่าการใช้ปริมาณกลีเซอรีนเริ่มต้นเท่ากับร้อยละ 10 (โดยปริมาตร) จะมีค่าสูงกว่า (3.33 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง) การใช้ปริมาณกลีเซอรีนเริ่มต้นเท่ากับร้อยละ 15 และ 20 (โดยปริมาตร) ซึ่งมีค่าระหว่าง 2.52-2.59 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง ดังนั้นการใช้ปริมาณกลีเซอรีนเริ่มต้นเท่ากับร้อยละ 15 และ 20 (โดยปริมาตร) จะให้ประสิทธิภาพในการผลิตเอทานอลที่ค่อนข้างต่ำ เมื่อเปรียบเทียบกับ การใช้ปริมาณกลีเซอรีนเริ่มต้นเท่ากับร้อยละ 10 (โดยปริมาตร) ซึ่งเป็นการผลิตเอทานอลที่ไม่คุ้มค่า ทั้งนี้เพราะต้องสูญเสียค่าใช้จ่ายในสัดส่วนที่สูงกว่าผลได้ของเอทานอลที่ได้เมื่อเปรียบเทียบกับ การใช้ปริมาณกลีเซอรีนเริ่มต้นเท่ากับร้อยละ 10 (โดยปริมาตร) ซึ่งมีความเป็นไปได้มากกว่าการใช้ปริมาณกลีเซอรีนอื่น ๆ ซึ่งการศึกษาโดยทั่วไปจะใช้ปริมาณกลีเซอรีนระหว่าง ร้อยละ 3-10 (โดยปริมาตร) (Lincoln, 1960; Meyrath, Suchaneck, 1972; Hunt, Stieber, 1986 อ้างถึงใน Stanbury *et al.*, 1995) ดังนั้นการเลือกใช้ปริมาณกลีเซอรีนเริ่มต้นเท่ากับร้อยละ 10 (โดยปริมาตร) จึงมีความเหมาะสมที่สุดที่จะนำมาใช้ในการผลิตเอทานอล

การศึกษาประสิทธิภาพของการหมักในสภาวะที่ควบคุมค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ให้คงที่ระหว่าง pH 5.5 และ 6.5 โดยใช้ปริมาณกลีเซอรีนเริ่มต้นเท่ากับร้อยละ 10 (โดยปริมาตร) พบว่าแบคทีเรีย *Z. mobilis* TISTR 548 สามารถที่จะเปลี่ยนน้ำตาลรีดิวซ์ได้มากกว่าร้อยละ 97 ของน้ำตาลรีดิวซ์เริ่มต้นของทั้ง 2 ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) คงที่ แต่เมื่อพิจารณาผลได้ของเอทานอลที่ได้ พบว่าการใช้ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) คงที่เท่ากับ 5.5 จะมีค่าสูงกว่า (0.481 กรัมเอทานอลต่อกรัมน้ำตาลรีดิวซ์ที่ถูกใช้ไป) ที่ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) คงที่เท่ากับ 6.5 (0.445 กรัมเอทานอลต่อกรัมน้ำตาลรีดิวซ์ที่ถูกใช้ไป) สำหรับผลได้ของมวลเซลล์ พบว่าการใช้ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) คงที่เท่ากับ 5.5 จะมีค่าสูงกว่า (0.024 กรัมมวลเซลล์ต่อกรัมน้ำตาลรีดิวซ์ที่ถูกใช้ไป) ที่ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) คงที่เท่ากับ 6.5 (0.021 กรัมมวลเซลล์ต่อกรัมน้ำตาลรีดิวซ์ที่ถูกใช้ไป) อยู่เพียงเล็กน้อย สำหรับค่าอัตราผลผลิตของเอทานอล พบว่าที่ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) คงที่เท่ากับ 5.5 จะมีค่าสูงกว่า (3.89 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง) ที่ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) คงที่เท่ากับ 6.5 ซึ่งมีค่าเท่ากับ 3.60 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง ดังนั้นการเลือกใช้ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) คงที่เท่ากับ 5.5 จึงมีความเหมาะสมที่สุด ซึ่งให้ผลได้ของเอทานอลและอัตราผลผลิตของเอทานอลแตกต่างอย่างชัดเจนเมื่อเปรียบเทียบกับที่ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เท่ากับ 6.5

5.4.2 การศึกษาการหมักแบบกึ่งกะ

การศึกษาการหมักเพื่อผลิตเอทานอลแบบกึ่งกะ โดยใช้อาหารเลี้ยงเชื้อสูตรปรับค่าที่มีรูปแบบการเติมน้ำตาลรีดิวซ์ 3 วิธี คือ 1) การเติมน้ำตาลรีดิวซ์ที่มีความเข้มข้นเท่ากับ 75 กรัมต่อลิตร ปริมาตร 250 มิลลิลิตร จำนวน 8 ครั้ง 2) การเติมอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีน้ำตาลรีดิวซ์เท่ากับ 150 กรัมต่อลิตร ปริมาตร 500 มิลลิลิตร จำนวน 4 ครั้ง และ 3) การเติมอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีน้ำตาลรีดิวซ์เท่ากับ 300 กรัมต่อลิตร ปริมาตร 1 ลิตร จำนวน 2 ครั้ง พบว่าแบคทีเรีย *Z. mobilis* TISTR 548 สามารถที่จะใช้น้ำตาลรีดิวซ์ได้ในช่วงเวลาเดียวกันคือภายใน 6 ชั่วโมงแรกของการหมักทั้ง 3 วิธี สำหรับการเติมน้ำตาลรีดิวซ์วิธีที่ 1 พบว่าการเติมน้ำตาลรีดิวซ์จะมีผลทำให้ความเข้มข้นของ

น้ำตาลรีดิวซ์ในถังปฏิกรณ์ชีวภาพมีการเปลี่ยนแปลงเพิ่มสูงขึ้นและลดลงอย่างรวดเร็วในช่วงเวลาที่สั้นมาก และแบคทีเรียมีการเจริญเติบโตได้อย่างต่อเนื่องในระหว่างที่มีการเติมน้ำตาลรีดิวซ์ อย่างไรก็ตามพบว่าความเข้มข้นของมวลเซลล์จะมีค่าเพิ่มสูงขึ้นเพียงเล็กน้อย โดยที่ความเข้มข้นสูงสุดของมวลเซลล์จะมีค่าเท่ากับ 2.48 กรัมต่อลิตร ในขณะที่ความเข้มข้นสูงสุดของเอทานอลจะมีค่าต่ำมากคือ 32.34 กรัมต่อลิตร สำหรับการเติมน้ำตาลรีดิวซ์วิธีที่ 2 พบว่าจะเห็นการเปลี่ยนแปลงของน้ำตาลรีดิวซ์อย่างชัดเจน และความเข้มข้นของเอทานอลจะมีค่าสูงกว่าการเติมน้ำตาลรีดิวซ์วิธีที่ 1 ซึ่งจะทำให้ความเข้มข้นสูงสุดของมวลเซลล์ค่อนข้างต่ำคือ 1.64 กรัมต่อลิตร และความเข้มข้นสูงสุดของเอทานอลเท่ากับ 46.47 กรัมต่อลิตร เมื่อเปรียบเทียบกับวิธีที่ 1 พบว่าจำนวนครั้งของการเติมและความเข้มข้นของน้ำตาลรีดิวซ์มีผลโดยตรงต่อความเข้มข้นของเอทานอลที่ได้ ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบกับวิธีที่ 3 ที่มีจำนวนครั้งของการเติมเพียง 2 ครั้งจะให้ความเข้มข้นของทั้งมวลเซลล์และเอทานอลมีค่าสูงที่สุด ซึ่งมีค่าเท่ากับ 3.00 และ 71.70 กรัมต่อลิตรตามลำดับ ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Siva Kesava *et al.* (1995) ที่ได้รายงานว่าการเพิ่มจำนวนครั้งของการเติมน้ำตาลกลูโคสในระหว่างการหมักจะทำให้ความเข้มข้นทั้งมวลเซลล์และเอทานอลมีค่าลดลง นอกจากนี้ยังสอดคล้องกับการศึกษาของ Ohta *et al.* (1981) ที่ได้รายงานว่าการเติมอาหารเลี้ยงเชื้อในระหว่างที่มีการหมักจะทำให้เกิดสภาวะที่มีก๊าซออกซิเจนขึ้นภายในถังปฏิกรณ์ชีวภาพมีค่าเพิ่มมากขึ้น ซึ่งจะทำให้ประสิทธิภาพในการผลิตเอทานอลของแบคทีเรีย *Z. mobilis* มีค่าลดลง อย่างไรก็ตามน้ำตาลรีดิวซ์ที่เติมในแต่ละครั้งทั้ง 3 รูปแบบจะถูกแบคทีเรียนำไปใช้อย่างรวดเร็ว ซึ่งสังเกตได้จากความเข้มข้นของน้ำตาลรีดิวซ์ที่เหลือจากการหมักจะมีค่าค่อนข้างต่ำมากซึ่ง Scopes, Griffiths-smith (1986 อ้างถึงใน <http://ces.iisc.ernet.in/curscinew/july10/articles14.htm>) พบว่าแบคทีเรีย *Z. mobilis* จะใช้น้ำตาลกลูโคสอย่างรวดเร็วในสภาวะที่มีน้ำตาลกลูโคสสูง ๆ โดยที่จะไม่มีการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ใน Entner-Doudoroff pathway ดังนั้นจึงทำให้มีน้ำตาลรีดิวซ์เหลืออยู่ในความเข้มข้นที่ต่ำเมื่อสิ้นสุดการหมัก ดังนั้นจากการทดลองการหมักแบบกึ่งกะ การลดจำนวนครั้งของการเติมจะช่วยลดสภาวะที่มีก๊าซออกซิเจนเกิดขึ้น และการเติมน้ำตาลรีดิวซ์ที่มีความเข้มข้นสูง (300 กรัมต่อลิตร) แบคทีเรียจะมีความสามารถในการเจริญเติบโตและผลิตเอทานอลได้สูงกว่า นอกจากนี้ในสภาวะที่มีก๊าซออกซิเจนสูง ๆ ยังส่งผลต่อการสะสมของอะเซตัลดีไฮด์ ซึ่งมีความเป็นพิษต่อแบคทีเรีย ซึ่งจากการทดลองไม่ได้ตรวจวัดอะเซตัลดีไฮด์จึงทำให้ไม่สามารถทราบถึงสภาวะของการเปลี่ยนแปลงระหว่างการผลิตเอทานอลและการสะสมของอะเซตัลดีไฮด์ได้ ซึ่งควรที่จะมีการศึกษาเพิ่มเติมต่อไป

บทที่ 6

สรุปผลการทดลอง

จากการศึกษาเพื่อคัดเลือกแบคทีเรีย *Z. mobilis* จำนวน 2 สายพันธุ์ ได้แก่แบคทีเรีย *Z. mobilis* TISTR 548 และ *Z. mobilis* TISTR 1042 ในอาหารเลี้ยงเชื้อสูตร yeast extract-peptone glucose และ cultivation medium พบว่าแบคทีเรีย *Z. mobilis* TISTR 548 มีความเหมาะสมที่สุดสำหรับที่จะนำไปใช้ในการหมักเพื่อผลิตเอทานอลจากน้ำเชื่อมที่ได้จากการย่อยกากมันสำปะหลัง

การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับใช้ในการหมักเพื่อผลิตเอทานอลจากน้ำเชื่อมที่ได้จากการย่อยกากมันสำปะหลังในอาหารเลี้ยงเชื้อสูตรอุดมดัดแปลงสูตรจากวิธีของ Siva Kesava *et al.* (1995) ในระดับขวดเขย่า ขนาด 500 มิลลิลิตร พบว่าสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการหมักเพื่อผลิตเอทานอลคือ การใช้น้ำตาลรีดิวิซ์เริ่มต้นเท่ากับ 100 กรัมต่อลิตร ที่ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เริ่มต้นเท่ากับ 5.5 และอัตราการเขย่าเท่ากับ 100 รอบต่อนาที ซึ่งจะให้ผลได้ของเอทานอลสูงที่สุดคือ 0.463 กรัมเอทานอลต่อกรัมน้ำตาลรีดิวิซ์ที่ถูกใช้ไป

การศึกษาแหล่งไนโตรเจนที่เหมาะสมสำหรับใช้ในการหมักเพื่อผลิตเอทานอลในอาหารเลี้ยงเชื้อสูตรปรับต่ำ ในระดับขวดเขย่า ขนาด 500 มิลลิลิตร พบว่าแหล่งไนโตรเจนที่เหมาะสมสำหรับใช้ในการหมักเพื่อผลิตเอทานอลคือ การใช้ NH_4Cl ที่มีความเข้มข้นเท่ากับ 1 กรัมต่อลิตร ซึ่งจะให้ผลได้ของเอทานอลสูงที่สุดคือ 0.419 กรัมเอทานอลต่อกรัมน้ำตาลรีดิวิซ์ที่ถูกใช้ไป

การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับใช้ในการหมักเพื่อผลิตเอทานอลในอาหารเลี้ยงเชื้อสูตรปรับต่ำในถังปฏิกรณ์ชีวภาพแบบถังกวน ขนาด 5 ลิตร สำหรับการศึกษาการหมักแบบกะ พบว่าสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการหมักและผลิตเอทานอลคือ การใช้ความเร็วรอบของใบกวนเท่ากับ 100 รอบต่อนาที ซึ่งจะให้ผลได้ของเอทานอลสูงที่สุดคือ 0.444 กรัมเอทานอลต่อกรัมน้ำตาลรีดิวิซ์ที่ถูกใช้ไปและปริมาณกลีเซอรอลเริ่มต้นเท่ากับร้อยละ 10 (โดยปริมาตร) ซึ่งจะให้ผลได้ของเอทานอลสูงที่สุดคือ 0.412 กรัมเอทานอลต่อกรัมน้ำตาลรีดิวิซ์ที่ถูกใช้ไปและการหมักในสภาวะควบคุมค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) คงที่เท่ากับ 5.5 ซึ่งจะให้ผลได้ของเอทานอลสูงที่สุดคือ 0.481 กรัมเอทานอลต่อกรัมน้ำตาลรีดิวิซ์ที่ถูกใช้ไปและการศึกษาการหมักแบบกึ่งกะ พบว่าการเติมอาหารเลี้ยงที่มีน้ำตาลรีดิวิซ์เท่ากับ 300 กรัมต่อลิตร ปริมาตร 1 ลิตร จำนวน 2 ครั้ง จะมีความเหมาะสมที่สุดสำหรับนำมาใช้ในการผลิตเอทานอล ซึ่งจะให้เอทานอลสูงที่สุดคือ 71.70 กรัมต่อลิตร

เอกสารอ้างอิง

- กล้าณรงค์ ศรีรอด. แนวทางการพัฒนามันสำปะหลังในอุตสาหกรรมอาหาร. ว. *อุตสาหกรรมเกษตร* 2536; 4(3): 16-22.
- _____. การเพิ่มมูลค่าให้กับกากมันสำปะหลัง. ว. *อุตสาหกรรมเกษตร* 2541; 4(3): 16-22.
- จันทนา อรรถสถาพร. “แก๊สโซฮอลล์” ผลประเมินทางเทคนิคเพื่อลงทุน. ว. *ส่งเสริมเทคโนโลยี* 2544; 28 (156) : 81-86.
- จิรวรรณ อภิรักษากร. *การผลิตน้ำเชื่อมกลูโคสจากการย่อยกากมันสำปะหลัง* [วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาเทคโนโลยีทางชีวภาพ]. กรุงเทพฯ ฯ: บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย; 2540.
- ชูศรี สุขุมลไพบูลย์. *การผลิตเอทานอลจากกากน้ำตาลโดยเชื้อ Zymomonas mobilis* [วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาชีววิทยา]. เชียงใหม่: บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเชียงใหม่; 2530.
- นงนุช ขวพันธ์. *การผลิตแอลกอฮอล์โดย Zymomonas mobilis*. [วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาชีววิทยา]. เชียงใหม่: บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเชียงใหม่; 2529.
- นฤมล ศรีสุเมะ, สุณันทา วงศ์ปิยชน, ชัยยุทธ รัชพิทยากุล. การผลิตแอลกอฮอล์จากผลิตภัณฑ์มันสำปะหลัง. ว. *เคมีวิศวกรรม-เทคโนโลยีทางอาหารและเครื่องดื่ม* 2524; 3(2): 11-23.
- ประสม สถาปิตานนท์. การศึกษาเชื้อเพลิงผสมระหว่างแอลกอฮอล์ต่าง ๆ กับน้ำมันเบนซิน. ว. *เคมีวิศวกรรม-เทคโนโลยีทางอาหารและเครื่องดื่ม* 2523; 2(2): 21-57.
- ไพบูลย์ ด้านวิรุฑ. *หลักการของเทคโนโลยีอุตสาหกรรมการหมัก*. กรุงเทพฯ ฯ: ภาควิชาวิทยาศาสตร์การอาหาร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์; 2520.
- ลิขิต ศิริสันติเมธาคม, วิไลลักษณ์ ชระธีระคุปต์, ศิริพร ลุนพรม. *การผลิตน้ำเชื่อมกลูโคสจากการย่อยกากมันสำปะหลังด้วยเอนไซม์ในถังปฏิกรณ์ชีวภาพระดับต้นแบบขนาด 50 ลิตร*. [โครงการพิเศษทางเทคโนโลยีชีวภาพ สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ]. ขอนแก่น: คณะเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยขอนแก่น; 2543.
- สินีนาด เจียมอนุกุลกิจ. *การผลิตกรดมะนาวโดย Candida oleophila NN 39 จากสารละลายน้ำตาลที่ได้จากการย่อยกากมันสำปะหลัง*. [วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีทางชีวภาพ]. กรุงเทพฯ ฯ: บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย; 2539.
- สมชาย โอสุวรรณ. Gasohol กับการผลิตแอลกอฮอล์ในประเทศบราซิล. ว. *เคมีวิศวกรรม-เทคโนโลยีทางอาหารและเครื่องดื่ม* 2522; 1(2): 25-47.
- สมใจ ศิริ โภค. *เทคโนโลยีการหมัก*. กรุงเทพฯ ฯ: ศูนย์สื่อเสริมกรุงเทพ; 2537.
- สมาคมการค้ามันสำปะหลังไทย. *รายงานประจำปี*. กรุงเทพฯ ฯ: สมาคมการค้ามันสำปะหลังไทย; 2530.
- สโม่สรเอทานอล-ไบโอดีเซลแห่งประเทศไทย, โฆษะ กรูป, คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น,

- บรรณาธิการ. *เอกสารประกอบการสัมมนาเรื่องเอทานอล-ไบโอดีเซล: พลังงานเพื่อชาติ*; 2 มิถุนายน 2544; ขอนแก่น; 2544.
- อรพิน ภูมิภมร. แนวโน้มการผลิตเอทานอลแอลกอฮอล์โดยแบคทีเรีย *Zymomonas*. *ว.ชมรมผู้หมักแอลกอฮอล์แห่งประเทศไทย* 2520; 1(1): 33-38.
- Abate C, Callieri D, Rodriquez E, Garro O. Ethanol production by a mixed culture of flocculent strains of *Zymomonas mobilis* and *Saccharomyces* sp. *Appl. Microbiol. Biotechnol* 1996; 45: 580-583.
- Amutha R, Gunasekaran P. Production of ethanol from liquefied cassava starch using co-immobilized Cells of *Zymomonas mobilis* and *Saccharomyces diastaticus*. *Bioscienc. Bioeng.* 2001; 6: 560-564.
- Atkinson B, Mativuna F. *Biochemical Engineering and Biotechnology Handbook*. 2nd ed. New York: M Stock Press; 1991.
- Baratti J, Varma R, Bu- lock J B. High productivity ethanol fermentation on a mineral medium using a flocculent strain of *Zymomonas mobilis*. *Biotechnol. Letters* 1986; 8 (3): 175-180.
- Barker B T P, Hillier V F. Cider sickness. *J. Agri. Scien.* 1912; 5: 67-85.
- _____. Some recent studies on the nature and incidence of cider sickness. *Annu. Rep. Agric. Hort. Res. Stn. Long Ashton Bristol* 1948: 174-181.
- Bekers M, Vigants A, Laukevics J, Toma M, Rapoport A, Zikmanis P. The effect of osmo-induced Stress on product formation by *Zymomonas mobilis* on sucrose. *Internal. J. Food Microbiol.* 2000; 55: 147-150.
- _____, Laukevics J, Karsakevich A, Ventina E, Kaminska E, Upite D, Vina I, Line R, Scherbaka R. Levan-ethanol biosynthesis using *Zymomonas mobilis* cells immobilized by attachment and entrapment. *Process Biochem* 2001; 36: 979-986.
- Belaich J P, Senez J C. Influence of aeration and pantothenate on growth yields of *Zymomonas mobilis*. *J. Bacteriol* 1965; 89: 1195-1200.
- Bringer S, Sahm H. Ethanol production by *Zymomonas mobilis* and its application on an industrial scale. *Biotechnol. Bioeng. Symp* 1984; 14: 311-319.
- Bravo S, Mahn A, Shene C. Effect of feeding strategy on *Zymomonas mobilis* CP4 fed-batch fermentations and mathematical modeling of the system. *Appl. Microbiol. Biotechnol* 2000; 54 : 487-493.
- Buchanan R E, et al. *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*. 8th ed. Baltimore: The William and Wilkin's Co; 1974.
- Carr J G, Passmore S M. Discovery of the cider sickness bacterium *Zymomonas anaerobia* in apple pulp. *J. Inst. Brew. London* 1971; 77: 462-466.

- _____. Genus *Zymomonas* Kluyver and van Niel 1936, 399, p. 352-353. In Buchanan R E, Gibbons N E (ed), *Bergey's manual of determinative bacteriology*, 8th ed. Baltimore: The William and Wilkin's Co; 1974.
- Carto G R, Andribet E P, Ducrey L M, Garro O A, Sineriz F. Modelling and operation of a turbidity-Meter for on-line monitoring of microbial growth in fermenters. *Process Biochem* 1995; 30(8): 767-772.
- Dawes E A, Ribbons D W, Large P J. The route of ethanol formation in *Zymomonas mobilis*. *J. Biochem* 1966; 98: 795-803.
- Di Marco A A, Ramano A H. D, Glucose transport system in *Zymomonas mobilis*. *Appl. Environ. Microbiol* 1985; 49: 151-157.
- Doelle M B, Doelle H W. Sugar-cane molasses fermentation by *Zymomonas mobilis*. *Appl. Microbiol. Biotechnol* 1990; 33: 31-35.
- _____, Millichip R J, Doelle H. W. Production of ethanol from corn using inoculum cascading of *Zymomonas mobilis*. *Process Biochem* 1989; 24: 137-140.
- _____, Greenfield P F, Doelle H W. Effect of mineral ions on ethanol formation during sugar cane molasses fermentation using *Zymomonas mobilis*. *Process Biochem* 1990; 25: 151-156.
- Doran P M. *Bioprocess Engineering Principles*. Great Britian: Academic Press Limited; 1998.
- Gibbs M, De Moss R D. Ethanol formation in *Pseudomonas lindneri*. *Arch. Biochem. Biophys* 1951; 34: 478-479.
- _____. Anaerobic dissimilation of C14-labelled glucose and fructose by *Pseudomonas lindneri*. *J. Biol. Chem* 1954; 207: 689-694.
- Goncalves De Lima O, De Araujo J M, Schumacher I E, Cavalcanti Da Silva E. Estudos de microrganismos antagonistas presentes nas bebidas fermentadas usadas pelo povo do Recife . I. Sobre uma variedade de *Zymomonas mobilis* (Lindner) (1928) Kluyver van Niel (1936) : *Zymomonas mobilis* var. *recifensis* (Goncalves de Lima, Araujo, Schumacher, Cavalcanti) (1970), isolada de bebida popular denominada caldode-cana picado. *Rev. Inst. Antibiot. Univ. Recife* 1970; 10: 3-15.
- Gunsekaran P, Chandra Raj K. *Ethanol fermentation technology-Zymomonas mobilis*. [cited 2002 june 6]. Available from: URL: <http://ces.iisc.ernet.in/curscnew/july10/articles14.htm>.
- Grace M R. *Cassava Processing*. Rome: FAO; 1977.
- Hendrie M S, Shewan J M. *The identification of certain Pseudomonas species*, p. 1-7. In Gibb B M, Skinner F E (ed), *Identification methods for microbiologists*. The Society for Applied Bacteriology. Technical series no. 2, part A. New York: Academic Press Inc.; 1966.

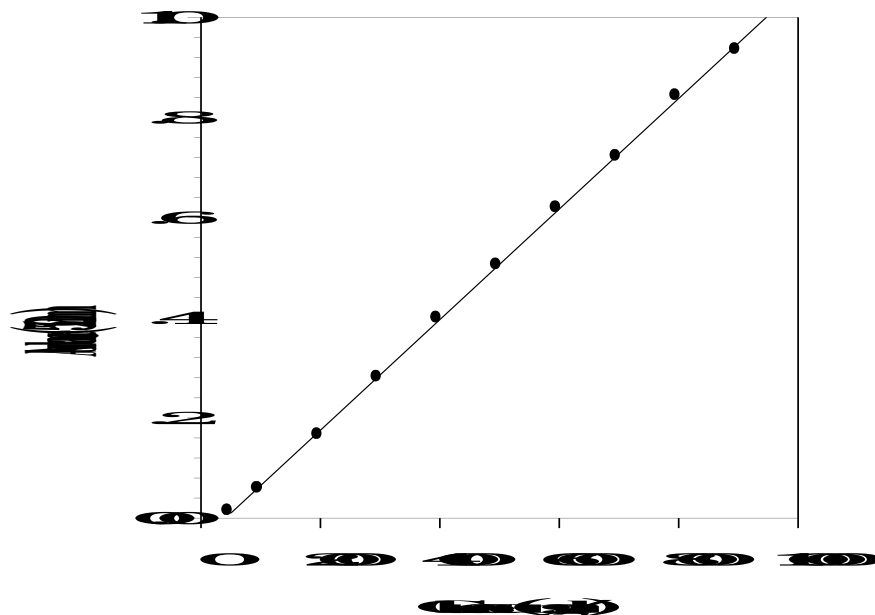
- Iida T, Sakamoto M, Izumida H, Akagi Y. Characteristics of *Zymomonas mobilis* immobilized by photo-crosslinkable resin in ethanol fermentation. **Ferm. Bioeng** 1993; 75: 28-31.
- Ishikawa H, Nobayashi H, Tanaka H. Mechanism of fermentation performance of *Zymomonas mobilis* under oxygen supply in batch culture. **Ferm. Bioeng** 1990; 70: 34-40.
- _____, Tanaka H. Effect of ventilation on the production of acetaldehyde by *Zymomonas mobilis*. **Ferm. Bioeng** 1992; 73: 297-302.
- Jaleel S A, Srikanta S, Ghildyal N P, Lonesane B K. Simultaneous solid phase fermentation and saccharification of cassava fibrous residues for production of ethanol [Abstract]. **Starch / Staerke**. 1988 : 40 (2); 55-58. Biological Abstract. 85 (1988). Abstract No. 110237.
- Kamini N R, Gunasekarun P. Ethanol production from lactose by coculture of *Kluyveromyces fragilis* and *Zymomonas mobilis*. **Ferm. Bioeng** 1989; 73: 297-302.
- Kolios G, Lekka M, Typas M A, Drinas C. Bioconversion of fruit and sugar beet extracts by *Zymomonas mobilis* to ethanol and other fine chemicals. **Ferm. Bioeng** 1989; 967: 363-365.
- Kluyver A J, Hoppenbrouwers W J. Ein merkwürdiges Gärungsbakterium: Lindner's *Termobacterium* mobile. **Arch. Mikrobiol** 1931; 2: 245-260.
- Krishnan M S, Taylor F, Davison B H, Nghiem N P. Economic analysis of fuel ethanol production from Corn starch using fluidized-bed bioreactors. **Bioresource Technol** 2000; 75: 99-105.
- Lindner P. *Termobacterium* mobile, ein mexikanisches Bakterium als neues Einsäuerungsbakterium für Rubenschnitzel. **Z. Ver. Dsch. Zuckerind** 1931; 81: 25-36.
- McGill D J, Dawes E A. Glucose and fructose metabolism in *Zymomonas anaerobia*. **J. Biochem** 1971; 125: 1059-1068.
- _____, Dawes E A, Ribbons D W. Carbohydrate metabolism and growth yield coefficients of *Zymomonas anaerobia*. **J. Biochem** 1965; 97: 44P-45P.
- Mandelstern J, Mc Quillen K. **Biochemistry of Bacterial Growth**. 2nd ed. London : Blackwell Scientific Publications; 1973.
- Millis N F. Some bacterial fermentations of ciders. [Ph. D. thesis]. Bristol U. K: University of Bristol; 1951.
- _____. A study of the cider-sickness bacillus-a new variety of *Zymomonas anaerobia*. **J. Gen. Microbiol** 1956; 15: 521-528.
- Millichip R J, Doelle H. W. Large-scale ethanol production from milo (Sorghum) using *Zymomonas mobilis*. **Process Biochem** 1989; 24: 141-145.
- Neuberg C, Kobel M. Über den Mechanismus des Abbaus von Zucker durch das *Termobacterium* mobile Lindner. **Biochem. Z** 1931; 243: 451-460.
- Ohta K, Supanwong K, Hayashida S. Environmental effect on ethanol tolerance of *Zymomonas mobilis*.

- Ferm. Technol** 1981; 59(6): 435-439.
- Park S C, Baratti J. Comparison of ethanol production by *Zymomonas mobilis* from sugar beet substrates. **Appl. Microbiol. Biotechnol** 1991; 35: 283-291.
- _____, Baratti J. Continuous ethanol production from sugar beet molasses using an osmotolerant mutant strain of *Zymomonas mobilis*. **Ferm. Bioeng** 1992; 73: 16-21.
- _____, Baratti J. Effect of potassium chloride on ethanol production by an osmotolerant mutant strain of *Zymomonas mobilis*. **Appl. Microbiol. Biotechnol** 1993; 38: 542-549.
- Pradistsuwana C, Tantratian S, Chotineerant S, Siritheerasas P, Rangsan A, Sripuacharuan R. **Ultra-Filtration for glucose production from cassava pulp**. [cited 2002 nov 16]. Available from: URL: <http://www.engr.tu.ac.th/info/rr/rr1997/fullpapers.htm>.
- Raps S, DeMoss R D. Glycolytic enzymes in *Zymomonas mobilis*. **J. Bacteriol** 1962; 84: 115-118.
- Ribbons D W, Dawes E A. Nicotinamide-adenine nucleotide-linked dehydrogenases of *Zymomonas mobilis* (*Pseudomonas lindneri*). **J. Biochem** 1961; 81: 3P-4P.
- Rhee S K, Pagan R J, Lefebvre M F, Wong L, Rogers P L. Ethanol production from desalted molasses using *Saccharomyces uravum* and *Zymomonas mobilis*. **J. Ferment. Technol.** 1984; 2(3): 297-300.
- Richards M, Corbey D A. Isolation of *Zymomonas* from primed beer. **J. Inst. Brewing** 1974; 80: 241-244.
- Rogers P L, Lee K L, Tribe D E. High productivity ethanol fermentations with *Zymomonas mobilis*. **Process Biochem** 1980; 15 (6): 7-11.
- _____, Skotnicki M L, Lee K J, Lee J H. Recent developments in the *Zymomonas* process for ethanol production. **CRC Crit. Rev. in. Biotechnol** 1984; 1: 273-288.
- Schreder K, Brunner R, Hampe. Die anaerobe und aerobe Garung von *Pseudomonas lindneri* Kluyver In glucose-haltiger anorganischer Nahrlosung. **Biochem. Z** 1934; 273: 223-242.
- Shamala T R, Sreekantiak K R. Saccharification of tapioca starch residue with a multienzyme preparation of *Aspergillus ustus*. **Starch / Staerke**. 1986; 38 (12): 428-432.
- Chemical Abstract. 106 (1987): Abstract No. 83006.
- Shimwell J L. Study of a new type of beer disease bacterium (*Achromobacter anaerobium* sp. nov) Producing alcoholic fermentation of glucose. **J. Inst. Brew. London** 1937; 43: 507-509.
- _____. *Saccharomonas*, a proposed new genus for bacteria producing a quantitative alcohol fermentation of glucose. **J. Inst. Brew. London** 1950; 56: 179-182.
- Siva Kesava S , Rakshit S K, Panda T. Production of ethanol by *Zymomonas mobilis* : The effect of batch step- feeding of glucose and relevant growth factors. **Process Biochem** 1995; 30: 41-47.

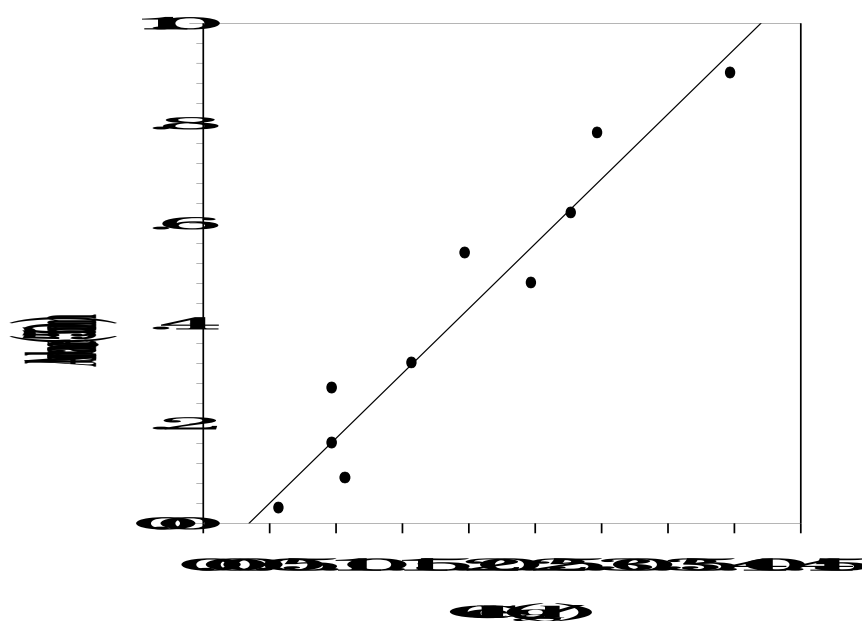
- Skotnicki M L, Lee K J, Tribe D E, Rogers PL. Comparison of ethanol production by different *Zymomonas* Strains . *Appl. Environ. Microbiol* 1981; 41(4): 889-893.
- Sly L I, Doelle H W. Glucose-6-phosphate dehydrogenase in cell-free extract of *Zymomonas mobilis*. *Arch. Mikrobiol* 1968; 63: 197-213.
- Sreekumar O, Chand N, Basappa S C. Optimization and interaction of media components in ethanol Production using *Zymomonas mobilis* by response surface Methodology. *Bioscien. Bioeng* 1999; 88: 334-338.
- Srikanta S, Jaleel S A, Ghildyal N P, Lonesene B K, Karath N G. Novel technique for saccharification of cassava fibrous waste for alcohol production. *Starch / Stearke*. 1987; 39 (7): 234-237.
Biological Abstract. 84 (1987): Abstract No.6590.
- Stanbury P F, Whitaker A, Hall S J. *Principles of Fermentation Technology*. Great Britain: Pergamon; 1995.
- Stern I J, Wang C H, Gilmour C M. Comparative catabolism of carbohydrates in *Pseudomonas* species. *J. Bacteriol* 1960; 79: 601-611.
- Swings J. Taxonomie van het bacterien-geslacht *Zymomonas* Kluyver and van Niel 1936.
[Doktoraatsthesis Fak Landbouwwetenschappen]. Leuven: Katholieke Universiteit; 1974.
- _____, De Ley J. The Biology of *Zymomonas*. *Bacterial Rev* 1977; 1: 1-46.
- Tanaka K, Hilary Z D, Ishizaki A. Investigation of the utility of pineapple juice and pineapple waste Materials as low-cost substrate for ethanol fermentation by *Zymomonas mobilis*.
Bioscien. Bioeng 1999; 5: 642-646.
- Tripetchkul S, Tonakawa M, Ishizaki A. Ethanol production by *Zymomonas mobilis* using natural rubber waste as a nutritional source. *Ferm. Bioeng* 1992 ; 74 : 384 388.
- Viikari, L. Formation of Levan and Sorbitol from Sucrose by *Zymomonas mobilis*. *Appl. Microbiol. Biotechnol* 1984; 19: 252-255.

ภาคผนวก

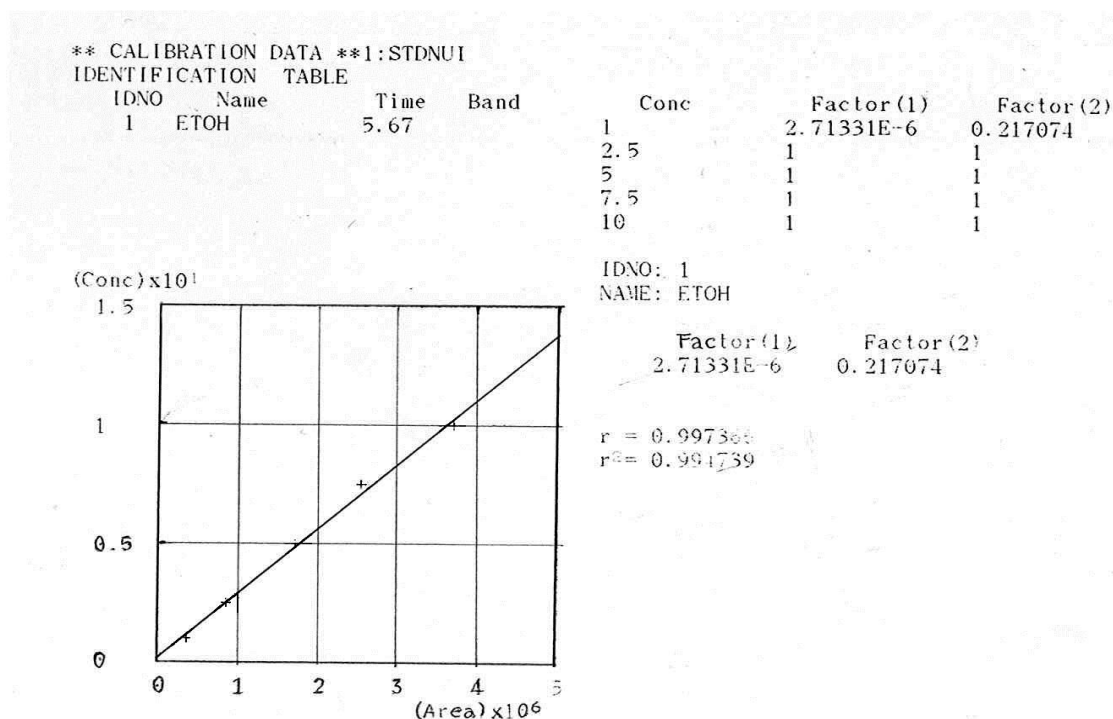
กราฟมาตรฐานน้ำตาลกลูโคส



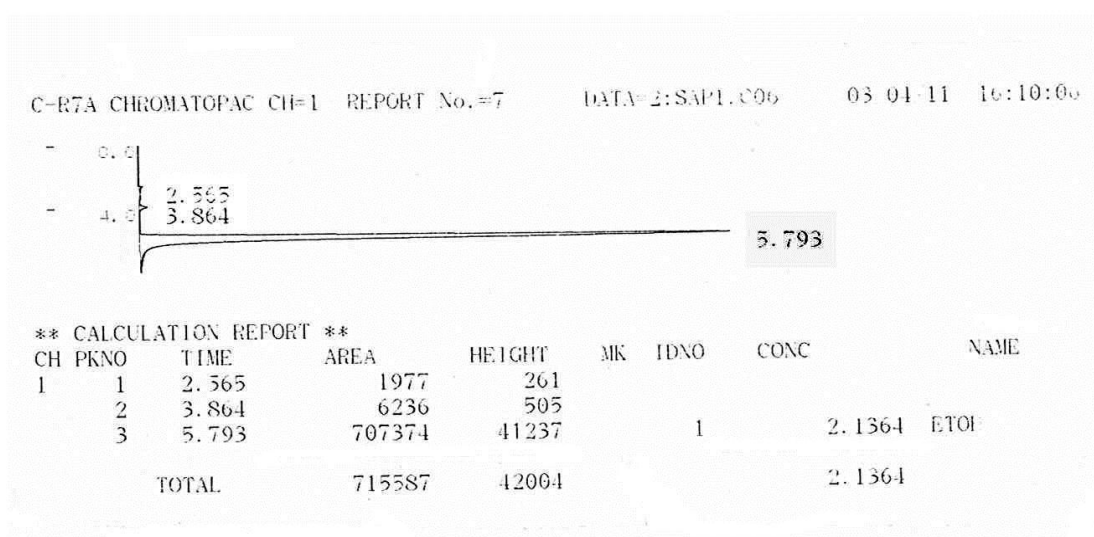
กราฟมาตรฐานมวลดเซลล์



กราฟมาตรฐานเอทานอลและโครมาโตแกรมเอทานอลจากตัวอย่าง



กราฟมาตรฐานเอทานอล



โครมาโตแกรมเอทานอลจากตัวอย่าง

การคำนวณประสิทธิภาพของการย่อยกากมันสำปะหลัง

- 1.กากมันสำปะหลังแห้ง (กิโลกรัม)
- 2.ปริมาตรของเหลวขึ้น (กากมันสำปะหลัง+น้ำกลั่น) (ลิตร)
- 3.ปริมาตรน้ำเชื่อมที่แยกได้ (ลิตร)
- 4.ความเข้มข้นของน้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร)
- 5.ประสิทธิภาพของการผลิตน้ำตาลรีดิวซ์ (ร้อยละของกากมันสำปะหลังเริ่มต้น) =60.59
- 6.ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้ (กิโลกรัม)

สูตรการคำนวณค่าพารามิเตอร์জনপলাসত্ৰ

1.ระยะเวลาของการหมัก (ชั่วโมง) จากวิธีของ Park, Baratti (1993)

คำนวณจากการพล็อตค่าความเข้มข้นของเอทานอลบนกราฟลอการิทึมกับเวลา จากนั้นลากเส้นตรงจากแกนเอทานอลสูงสุดผ่านแกนเวลาจะได้ระยะเวลาของการหมัก

2.ประสิทธิภาพของการเปลี่ยนน้ำตาลกลูโคสหรือน้ำตาลรีดิวซ์

(ร้อยละของน้ำตาลกลูโคสหรือน้ำตาลรีดิวซ์)

$$\frac{(\text{น้ำตาลกลูโคสหรือน้ำตาลรีดิวซ์เริ่มต้น} - \text{น้ำตาลกลูโคสหรือน้ำตาลรีดิวซ์สุดท้าย}) \times 100}{(\text{น้ำตาลกลูโคสหรือน้ำตาลรีดิวซ์เริ่มต้น})}$$

3.ผลได้ของมวลเซลล์ (กรัมมวลเซลล์ต่อกรัมน้ำตาลกลูโคสหรือน้ำตาลรีดิวซ์ที่ถูกใช้ไป)

$$\frac{(\text{มวลเซลล์สูงสุด})}{(\text{น้ำตาลกลูโคสหรือน้ำตาลรีดิวซ์เริ่มต้น} - \text{น้ำตาลกลูโคสหรือน้ำตาลรีดิวซ์สุดท้าย})}$$

4.ผลได้ของเอทานอล (กรัมเอทานอลต่อกรัมน้ำตาลกลูโคสหรือน้ำตาลรีดิวซ์ที่ถูกใช้ไป)

$$\frac{(\text{เอทานอลสูงสุด})}{(\text{น้ำตาลกลูโคสหรือน้ำตาลรีดิวซ์เริ่มต้น} - \text{น้ำตาลกลูโคสหรือน้ำตาลรีดิวซ์สุดท้าย})}$$

5.ประสิทธิภาพของผลได้ของเอทานอล (ร้อยละของค่าที่ได้ตามทฤษฎี)

$$\frac{(\text{ผลได้ของเอทานอล}) \times 100}{(\text{ผลได้ของเอทานอลที่ได้ตามทฤษฎี})}$$

6.อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (ต่อชั่วโมง)

คำนวณจากการพล็อตค่ามวลเซลล์บนกราฟลอการิทึมธรรมชาติกับเวลา จากนั้นลากเส้นผ่านช่วงที่ชันที่สุดบนเส้นกราฟของค่ามวลเซลล์

7.อัตราผลผลิตเอทานอล (กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง)

$$\frac{(\text{เอทานอลสูงสุด})}{(\text{ระยะเวลาการหมัก})}$$